Aus der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln

Ärztl. Direktor: Professor Dr. med. Emil-Sebastian BÜCHERL

Über den Einfluß des intravenös applizierten ^{198}Au-Kolloides auf das weiße Blutbild bei Hund und Ratte und die Toleranz von Haut-Homotransplantaten

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Irene Warnecke
aus Stettin

1969

Aus der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
Ärztl. Direktor: Professor Dr. med. Emil-Sebastian BÜCHERL

Über den Einfluß des intravenös applizierten ^{198}Au-Kolloides auf das weiße Blutbild bei Hund und Ratte und die Toleranz von Haut-Homotransplantaten

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Irene Warnecke
aus Stettin

Dekan:	Professor Dr. med. Hans Heinz Naumann
Referent:	Professor Dr. med. Emil Sebastian Bücherl
Korreferent:	Professor Dr. med. Volker Becker

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 1. 9. 1969

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	EINLEITUNG	7
	A. Allgemeines zur Transplantation	7
	B. Toleranzbeeinflussung	8
II.	METHODIK	12
	A. Tiermaterial und Anordnung der Versuche	12
	B. Angaben zum ^{198}Au-Kolloid	13
	C. Hauttransplantation, Kontrolle und Beurteilung der Transplantate	14
	D. Blutuntersuchungen	14
	E. Gewichtskontrollen	15
	F. Autopsie	15
	G. Allgemeine Hinweise	15
III.	ERGEBNISSE	16
	A. Hund mit wiederholter ^{198}Au-Kolloid-Applikation	16
	a) Blutuntersuchungen	16
	b) Allgemeinverhalten	18
	c) Sektionsbefund	19
	1. makroskopisch	19
	2. histologisch	19
	B. ^{198}Au-Kolloid Applikation und Haut-Homotransplantation bei der Ratte	20
	a) Vorversuche	20
	b) ^{198}Au in unterschiedlicher Dosierung und Haut-Homotransplantation	25
	c) ^{198}Au in einheitlicher Dosierung und Haut-Homotransplantation	32
	d) ^{198}Au in einheitlicher Dosierung und Variation des Zeitpunktes der Haut-Homotransplantation	38
	e) Histologische Untersuchung von Leber und Milz	43
IV.	DISKUSSION	46
V.	ZUSAMMENFASSUNG	52
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	54

I. EINLEITUNG

A. ALLGEMEINES ZUR TRANSPLANTATION

Im 20. Jahrhundert läßt die Geschichte der Transplantation drei aktive Phasen erkennen. Die erste wurde 1902 von ULLMANN und CARREL eingeleitet. Ihnen gelang es, mit der Überwindung eines chirurgisch-technischen Problems, nämlich das der Gefäßanastomosierung, eine wesentliche Voraussetzung zur Organtransplantation überhaupt zu schaffen. Die demonstrierten Nierenverpflanzungen regten in den folgenden Jahren zahlreiche Forschergruppen zu intensiver experimenteller Arbeit an, in der fundamentale Erkenntnisse über die Problematik der Gewebetransplantation ganz allgemein gewonnen wurden (LEXER, SCHÖNE, ENDERLEIN, STICH u. a.).

SCHÖNE sprach 1912 auf Grund seiner Untersuchungen und in Übereinstimmung mit Beobachtungen anderer Autoren die Vermutung aus, daß die regelmäßige Abstoßung von Homotransplantaten durch einen immunologischen Prozeß verursacht werde, dessen Intensität sich umgekehrt proportional zum Verwandtschaftsgrad zwischen Spender und Empfänger verhalte. Die Bestätigung dieser Hypothese konnte aber erst im Verlauf der folgenden Jahrzehnte erbracht werden.

Zunächst wurden einige genetische Grundlagen der Transplantation erforscht (zusammenfassende Darstellung von BITTNER 1935), bevor MEDAWAR 1944 immunologische Gesetzmäßigkeiten bei der Abstoßung von Hauttransplantaten beschrieb und das 'second-set' Phänomen für einen solchen Prozeß als entscheidendes Kriterium erkannte. Seine Beobachtungen lösten dann die zweite aktive Phase aus, in der sich Wissenschaftler aus der Immunologie, Hämatologie, Biochemie und Chirurgie gemeinsam bemühten, exakte Vorstellungen über Wesen und Ablauf dieser Reaktionen zu gewinnen. In eindrucksvollen Versuchsanordnungen konnten sie verschiedene Teilprobleme der Transplantationsimmunität klären, wenn auch heute noch viele zelluläre und molekulare Mechanismen als weitgehend unbekannt angesehen werden müssen.

Ein Beispiel dafür gibt die Schlüsselposition des Lymphocyten im allgemeinen Verlauf nach Homotransplantation. Diese Zelle ist sowohl bei der Antikörperbildung - hervorgerufen durch die Transplantatantigene

im Wirtsorganismus - als auch bei der Transplantatabstoßung direkt beteiligt; wie jedoch ihre funktionelle Potenz in den immunologischen Vorgang insgesamt integriert wird, ist bis jetzt nicht eindeutig entschieden. Ob sie sich unter antigener Stimulation über große, basophile Zellen entweder in antikörperbildende Plasmazellen oder in aktive Lymphocytenformen umwandelt, ist noch Gegenstand umfangreicher Untersuchungen (zusammenfassende Darstellungen von MILLER (1964), ELVES (1966), ZACHARSKI (1967) u. a.).

An der immunologischen Kompetenz allerdings, insbesondere des kleinen Lymphocyten, besteht wohl kein Zweifel mehr (MEDAWAR 1963). Auch die verlängerten Transplantatüberlebenszeiten nach selektiver Reduktion der Lymphocyten (McGREGOR und GOWANS, 1963) bestätigen diese Tatsache.

Eng verbunden mit der Klärung immunologischer Reaktionen war die Forschung nach dem Ursprung und Wesen der aktiv erworbenen Immunität. Dieses Phänomen wurde in einigen sehr interessanten Theorien dargestellt (zusammenfassende Darstellung von BURNET 1959), wobei die 'clonal-selection' Theorie von BURNET den Vorzug hatte, daß sie weitgehend in experimentell gewonnenen Erfahrungen Unterstützung fand. Entscheidend wirkten sich diesbezüglich die Versuche von BILLINGHAM, BRENT und MEDAWAR (1953) aus, mit denen eine Möglichkeit der aktiv erworbenen Toleranz fremder Zellen demonstriert werden konnte. Wenn dieses Ereignis im Jahre 1953 anfangs auch nur von tierexperimenteller und keineswegs klinischer Bedeutung war, so zeigte es doch generell eine Form der immunologischen Beeinflussung. Als wegweisender Beitrag zur Geschichte der Transplantation stellte es damit den Anfang der dritten Phase dar, in der die Entwicklung der Immunosuppression hervorragende Fortschritte erzielen sollte.

B. TOLERANZBEEINFLUSSUNG

Eine spezifische Hemmung der durch die Transplantation ausgelösten Immunreaktionen ist bis heute zwar noch nicht gelungen, aber eine Toleranzverbesserung läßt sich schon auf vielfache Weise erreichen. Mit besonderem Interesse wendet man sich den Maßnahmen zu, die

1. mit pharmakologischen Substanzen
2. mit immunbiologischen Methoden
3. durch physikalische Therapie

die Bildung der Antikörper sowie ihren Transport effektvoll unterdrücken.

An erster Stelle stehen hier die sog. Antimetabolite, die die Synthese bestimmter Ribonukleinsäuren hemmen und durch den gestörten Kernstoffwechsel antimitotisch wirken. Dadurch soll die Proliferation der sich rasch teilenden, antikörperbildenden Zellen verhindert werden.

In diese Gruppe gehört das 6-Mercaptopurin, dessen Wirkung auf immunologische Vorgänge zuerst SCHWARTZ, STACK und DAMASHEK 1958 beschrieben haben. Den Nachweis, daß es tatsächlich die Transplantatüberlebenszeit verlängert, erbrachten später SCHWARTZ und DAMASHEK (1960); CALNE, HUME, ZUKOSKY u. a. Ein Derivat dieser Substanz, das Azathioprine, kann sogar heute noch als das wichtigste Präparat auf diesem Gebiet bezeichnet werden (ALEXANDRE, MURRAY, KOLFF u. a.).

Auf eine andere Art übt der Folinsäureantagonist Methotrexat seine immunosuppressive Wirkung aus (UPHOFF). Er inhibiert die Konversion von Folinsäure in den Citrovorumfaktor mit der Folge einer gestörten Synthese von Pyrimidin und Thymin. Vorwiegend BLUMENSTOCK (1964) und CALNE (1967) haben gezeigt, daß unter dieser Behandlung sowohl nach Lungen- als auch nach Nierentransplantationen langfristige Funktionsverbesserungen zu erreichen sind.

Ein cytostatisch wirksames Antibiotikum, das Aktinomycin C, bewährt sich besonders beim Auftreten erneuter Abwehrreaktionen (CALNE, MURRAY (1961), ALEXANDRE (1963) u. a.). In der gleichen Situation erweist sich auch die zusätzliche Applikation von Prednison als vorteilhaft (HUME (1959), STARZL (1964), ZUKOSKY, CALLAWAY, RHEA (1965) u. a.).

Darüber hinaus sind noch eine Reihe von Substanzen geprüft worden, die vorwiegend durch ihre cytostatischen Eigenschaften bekannt waren und im Rahmen der Carcinombehandlung bereits Anwendung fanden, wie z. B. das Endoxan und das Trenimon (EISELE, BUSSE 1967).

Eine sehr vielversprechende Methode der Immunosuppression bahnt sich in Form des Antilymphocytenserums an (zusammenfassende Darstellung von WOLSTENHOLME 1967). Seit WOODRUFF und ANDERSON 1963 nachgewiesen haben, daß es die Überlebenszeit von Hauttransplantaten signifikant verlängert, ist es in intensiver experimenteller Forschung weiterentwickelt worden und liegt jetzt in einer Form vor, die schon für die klinische Erprobung geeignet erscheint (STARZL, PICHLMAYER, MURRAY u. a.).

Wie das Antilymphocytenserum in den Immunprozeß eingreift, ist zum größten Teil noch Hypothese. Das, was es vor anderen immunosuppressiven Substanzen auszeichnet, ist seine unterschiedliche Wirkung auf die zelluläre und auf die gewöhnliche Immunitätslage. MEDAWAR und Mitarbeiter halten damit bei geeigneter Dosierung eine Unterdrückung der Transplantatreaktionen für möglich, ohne den Empfänger in seiner allgemeinen Abwehrkraft wesentlich zu beeinträchtigen. Mit diesen Vorzügen ausgestattet, wird ihm in Zukunft eine bedeutende Rolle bei der Toleranzbeeinflussung zufallen.

Unter den physikalischen Methoden zeigte zuerst die Röntgenganzkörperbestrahlung einen ausreichend immunosuppressiven Effekt, wenn sie in subletaler Dosierung zusammen mit Knochenmarksinfusionen appliziert wurde (FERREBEE, THOMAS (1958), (1963) u. a.). Im klinischen Bereich ermöglichte die Bestrahlung allein die erste erfolgreiche Nierentransplantation zwischen zweieiigen Zwillingen (HAMBURGER 1959) und erwies sich auch bei weiteren Patienten als wirkungsvoll unter der Voraussetzung einer genetischen Verwandtschaft zwischen Spender und Empfänger. Allerdings kam es auch häufig zu einer ausgeprägten Strahlenschädigung des Gesamtorganismus, auf Grund derer diese Methode später wieder verlassen wurde.

Daß die isolierte Bestrahlung des Transplantates zwar seine Antigenität herabsetzte, aber letztlich die Abstoßungsreaktionen nicht verhindern konnte, ergaben die experimentellen Untersuchungen von DEMPSTER (1952). In jüngster Zeit bestand jedoch mehrfach der Eindruck, als ob die lokale Anwendung der Röntgenstrahlen zusätzlich zu pharmakologischen immunosuppressiven Maßnahmen durch Beeinflussung des efferenten Reaktionsweges einen günstigen Effekt ausübte (WOLF, McGAVIC, HUME (1967)).

Auf eine ganz neue Methode machten CRONKITE und seine Mitarbeiter 1962 aufmerksam: mit Hilfe eines extrakorporalen Shuntes, der entweder arterio-venös oder lympho-venös angelegt war, gelang ihnen die isolierte Bestrahlung von Blut bzw. Lymphe. Sie erzeugten damit eine Lymphophenie und verlängerte Toleranzzeit von Hauttransplantaten, die sich durch gleichzeitige Drainage des Lymphganges noch verstärken ließ. Für die praktische Anwendung erscheint dieses Verfahren wegen seines erheblichen methodischen Aufwandes über längere Zeit noch nicht geeignet.

WOLF und HUME wollten die Nachteile der dauernden apparativen Abhängigkeit umgehen, indem sie einen β -Strahlen emittierenden Körper direkt in das Lumen der Aorta implantierten. Sie erreichten auf diese Weise eine länger anhaltende Lymphopenie und eine Abschwächung immunologischer Reaktionsabläufe sowohl nach Zufuhr von Fremdeiweiß als auch nach Organtransplantation. Allerdings traten dabei Komplikationen in Form von Thrombosen, Rupturen und Infektionen der Aortenwand auf.

WHEELER, WHITE und CALNE (1965) injizierten ^{198}Au-Kolloid intralymphatisch und in die mesenterialen Lymphknoten, um die immunosuppressive Wirkung dieser Substanz nach Nierentransplantationen zu untersuchen. Die Hunde zeigten außer der Lymphopenie eine verzögerte Abstoßung der Transplantate, die besonders deutlich war bei zusätzlicher Splenektomie und Imuranbehandlung.

Diese Versuche ließen eine gewisse immunosuppressive Wirkung des ^{198}Au-Kolloides erkennen; die intralymphatische Applikation jedoch erschien in ihrer technischen Durchführung ebenso wie hinsichtlich einer zuverlässigen Dosierungsmöglichkeit schwierig und letztlich unbefriedigend.

In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb geprüft werden, welche Wirkung intravenös injiziertes ^{198}Au-Kolloid hinsichtlich der Blutbildveränderungen und einer Toleranzbeeinflussung von Haut-Homotransplantaten ausübte.

II. METHODIK

A. TIERMATERIAL UND ANORDNUNG DER VERSUCHE

Zunächst wurden einem Hund im Alter von ungefähr 3 Monaten und mit 4,1 kg Gewicht 7,2 mCi ^{198}Au-Kolloid intravenös injiziert. Das entsprach 1,7 mCi/kg. 4 Tage später erfolgte die nächste Applikation mit 3,0 mCi ^{198}Au, entsprechend 0,7 mCi/kg. Bei einer dritten Injektion 15 Tage später wurden schließlich 45,0 mCi ^{198}Au, entsprechend 9,4 mCi/kg appliziert.

Die Hauptuntersuchungen fanden an weißen Ratten des Sprangue-Daily Stammes statt. Sie waren durchschnittlich 8 bis 10 Wochen alt und hatten zu Beginn des Versuches ein Gewicht zwischen 120 und 170 g.

Die Tabelle 1 gibt eine Übersicht zur Anordnung der Versuche.

Gruppen-Nr.	Anzahl (Ratten)	Dosis ^{198}Au (mCi/100 g)	Zeitpunkt der Hauttranspl.	Blutabnahme
I	2	1,4 - 2,1	-	+
II	5	-	1. Vers. Tag	+
III	11	-	1. Vers. Tag	-
IV	6	2,4 - 3,5	2 Tg. nach ^{198}Au	+
V	5	1,8 - 2,1	2 Tg. nach ^{198}Au	+
VI	8	2,1	2 Tg. nach ^{198}Au	+
VII	9	2,1	1 Tg. vor ^{198}Au	-
VIII	11	2,1	3 Tg. vor ^{198}Au	-

Tabelle 1
Charakteristika der einzelnen Versuchsgruppen

In Gruppe I (2 Versuchstiere) wurde nach der Injektion von 1,4 mCi/100 g bzw. 2,1 mCi/100 g ^{198}Au die allgemeine Verträglichkeit dieser Dosis und ihre Auswirkung auf die Blutzellen, insbesondere auf die Leukocyten und lymphoiden Zellen geprüft.

Gruppe II (5 Versuchstiere) diente als Kontrollversuch, um unter gleichen Bedingungen, aber ohne Radiogoldbehandlung das Verhalten der

Leukocyten und lymphoiden Zellen nach Hauttransplantation zu bestimmen.

Gruppe III (11 Versuchstiere) zeigte den normalen Ablauf einer Haut-Homotransplantation ohne immunosuppressive Maßnahmen.

Gruppe IV (6 Versuchstiere) erhielt radioaktives Gold in einer Dosierung von 2, 2 mCi/100 g bis 4, 1 mCi/100 g Körpergewicht, 2 Tage später wurde Haut transplantiert. Das Verhalten der Blutzellen sowie des Hämoglobins wurde untersucht.

Bei Gruppe V (5 Versuchstiere) erfolgte die Applikation von 1, 8 mCi/100 g oder von 2, 1 mCi/100 g ^{198}Au 2 Tage vor der Hauttransplantation. Während der Versuchsdauer fanden in regelmäßigen Abständen Blutbildkontrollen statt.

In Gruppe VI (9 Versuchstiere) wurde allen Tieren die gleiche Dosis von 2, 1 mCi/100 g ^{198}Au 2 Tage vor der Hauttransplantation injiziert und dann das Verhalten der Leukocyten, der lymphoiden Zellen und des Hämoglobins geprüft.

Gruppe VII (9 Versuchstiere) erhielt 2, 1 mCi/100 g Körpergewicht radioaktives Gold einen Tag nach der Hauttransplantation.

Gruppe VIII (11 Versuchstiere) wurde erst 3 Tage nach der Hauttransplantation mit 2, 1 mCi/100 g ^{198}Au behandelt.

B. ANGABEN ZUM ^{198}AU-KOLLOID

Das Radiogold lag in kolloidaler Form als sterile, gelatinehaltige Lösung vor, deren Goldkonzentration 3, 5 mg/ml betrug. Der mittlere Teilchendurchmesser war 50 Å, die jeweiligen Aktivitätskonzentrationen schwankten um einen Wert von 2 mCi/ml. Die gewünschte Radioaktivität, deren Dosierung sich nach dem Körpergewicht des Versuchstieres richtete, wurde in der Radiosiotopenabteilung des Städtischen Auguste-Viktoria-Krankenhauses Berlin (Prof. Dr. Frommhold) eingestellt.

Zur Radiogoldinjektion erfolgte die Freilegung einer Halsvene in Narkose; in das Gefäß wurde ein dünner PVC-Schlauch eingeschoben. Anschließend wurde der Katheter wieder entfernt, die Vene unterbunden und die Wunde mit einer Naht verschlossen.

C. HAUTTRANSPLANTATION, KONTROLLE UND BEURTEILUNG DER TRANSPLANTATE

Die Hauttransplantation fand in Äthernarkose und unter sterilen Bedingungen statt. Die aus der Rückenhaut entnommenen, vorher geschorenen, mit Alkohol und Kodan desinfizierten, 3x3 bis 4x4 cm großen Transplantate wurden sorgfältig von Fett und subcutanem Bindegewebe befreit und zwischen zwei Tieren, jeweils um 180° gedreht, ausgetauscht. Zur Fixierung des Transplantetes dienten 8 bis 10 Michaelis-Klammern.

Am Versuchsanfang wurde der Zustand der Transplantate täglich aufgezeichnet, nach ca. 3 Wochen im Abstand von 2 Tagen. Die funktionstüchtigen Gewebestücke zeigten eine weiche Konsistenz und ein mehr oder weniger dichtes Haarwachstum entgegen der Strichrichtung der übrigen, eigenen Haare. Als Kriterien einer völligen Abstoßung dienten die zunehmende Induration sowie eine braunschwarze Verfärbung und fortschreitende, nekrotische Veränderungen des transplantierten Gewebes.

D. BLUTUNTERSUCHUNGEN

Bei einem großen Teil der Versuchstiere erfolgte die regelmäßige Entnahme von Blutproben und die Zählung der Leukocyten in einer Schilling-Kammer. Die gleichzeitig angefertigten Blutausstriche wurden nach dem von Pappenheim angegebenen Verfahren gefärbt und gestatteten eine Differenzierung sowie prozentuale Aufgliederung der weißen Blutzellen. Damit konnte dann auch der absolute Anteil der lymphoiden Zellen an der Gesamtleukocytenzahl bestimmt werden. Monocyten, kleine und große Lymphocyten, lymphatische Plasmazellen sowie ihre Vorstufe und Übergangsformen wurden in diesem Begriff zusammengefaßt. In den ersten Serien erfolgte ebenfalls die Zählung der Erythrocyten und Thrombocyten in einer Schilling-Kammer. Die Hämoglobinwerte ließen sich mit der Cyanhämoglobin-Methode im Eppendorf-Photometer ermitteln.

E. GEWICHTSKONTROLLEN

In regelmäßigen Abständen wurden alle Tiere gewogen und für die ganze Versuchsdauer Gewichtskurven aufgestellt.

F. AUTOPSIE

Bei fast allen Tieren fand eine Sektion statt, bei spontan ad exitum gekommenen innerhalb von 24 Stunden nach einer mehrstündigen Aufbewahrung bei + 4^{o} C. Die überlebenden Tiere wurden, wenn das Transplantat abgestoßen war, zwischen dem 48. und 64. Tag getötet und anschließend seziert. Leber und Milz wurden gewogen, in Formalin gelegt und später in der üblichen histologischen Technik aufbereitet. Der Nachweis des Goldpigments erfolgte durch die Spezialfärbemethode nach Borchardt-Michaelis.

G. ALLGEMEINE HINWEISE

Angaben zur Transplantatüberlebenszeit beziehen sich immer auf den Zeitpunkt der Transplantation, die Überlebenszeit der Versuchstiere dagegen auf die Radiogoldapplikation.

III. ERGEBNISSE

A. HUND MIT WIEDERHOLTER ^{198}AU-KOLLOID-APPLIKATION

a) Blutuntersuchungen

Wie Abbildung 1 zeigt, führte bei dem Hund Prt. Nr. H 110/66 die erste Applikation einer absoluten Dosis von 7, 2 mCi ^{198}Au, entsprechend 1, 7 mCi/kg, zu einem leichten Abfall der Leukocyten und der lymphoiden Zellen. Die erneute Applikation am 4. Tag danach von 3, 0 mCi ^{198}Au, entsprechend 0, 7 mCi/kg, bewirkte wieder eine geringe Reduktion der weißen Blutzellen, vorwiegend der lymphoiden Zellen. Jedoch schwankte die Gesamtzahl der Leukocyten im Verlauf der folgenden 2 Wochen erheblich.

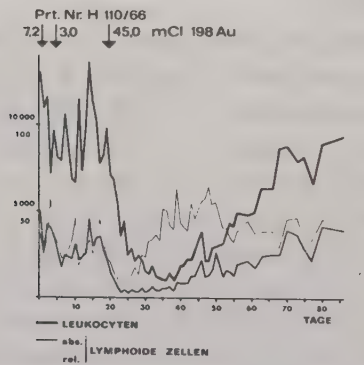

Abbildung 1:

Leukocyten und lymphoide Zellen bei Versuchstier Prt. Nr. H 110/66 nach Applikation von 1, 7 mCi/kg und 0, 7 mCi/kg und 9, 4 mCi/kg ^{198}Au.

19 Tage nach der ersten Injektion erhielt das Versuchstier eine Dosis von 45, 0 mCi ^{198}Au, entsprechend 9, 4 mCi/kg. Im peripheren Blut zeigte sich innerhalb der ersten Woche ein deutlicher Abfall der Leucocyten von 9800/mm^3 auf 2800/mm^3 und erreichte am 16. Tag ein Minimum von 1000/mm^3, entsprechend 8 % des Ausgangswertes. In den folgenden Wochen war ein langsamer, progredienter Anstieg zu erkennen, der Endwert 9 Wochen nach der letzten Radiogoldinjektion betrug 9300/mm^3 Leucocyten.

Der relative Anteil der lymphoiden Zellen fiel schon innerhalb der ersten Woche nach der Applikation von 9, 4 mCi/kg auf ein Minimum von 8 %, die absolute Zahl war gleichzeitig kleiner als 500/mm^3 lymphoide Zellen. Während in der 2. Woche die relativen Werte ihren Ausgangswert wieder erreichten, blieb die absolute Zahl der lymphoiden Zellen 18 Tage unter 1000 pro mm^3. In der 3. und 4. Woche war der prozentuale Anteil deutlich erhöht, die absoluten Werte der lymphoiden Zellen stiegen langsam wieder an. Nach 9 Wochen entsprachen relative und absolute Werte annähernd dem Ausgangswert.

4 Wochen nach der letzten Radiogoldinjektion ergaben die Bestimmungen des Hämoglobins, der Erythrocyten und der Thrombocyten stark reduzierte Werte, die sich in der weiteren Beobachtungszeit für das Hämoglobin und die Erythrocyten wieder normalisierten, die Thrombocyten waren auch nach 9 Wochen mit 177000/mm^3 noch verringert. Eine Übersicht wurde in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tage nach 9, 4 mCi/kg ^{198}Au	Hämoglobin (g%)	Erythrocyten (Mill./mm^3)	Thrombocyten (pro mm^3)
27	4, 7	1, 9	30000
40	11, 1	3, 8	--
56	15, 2	5, 0	--
67	16, 2	5, 5	177000

Tabelle 2:
Verhalten des Hämoglobins, der Erythrocyten und der Thrombocyten bei Versuchstier Prt. Nr. H 110/66 nach Applikation von 1, 7 mCi/kg und 0, 7 mCi/kg und 9, 4 mCi/kg ^{198}Au.

Analysen 4 Wochen nach der Injektion von 9, 4 mCi/kg ^{198}Au:

Gerinnungszeit: 6 Minuten, Bilirubin im Serum: 0, 1 mg% bzw. 0, 18 mg%, Mancke-Sommer Reaktion: 100 mg%, SGOT: 27 und SGPT: 22.

Die gleichzeitig durchgeführte elektrophoretische Eiweißbestimmung ergab die aus Tabelle 3 ersichtlichen Werte bei einem Gesamteiweiß von 5, 9 g%.

Eiweißfraktionen	Relativer Anteil (%)	Absoluter Anteil (g%)
A	37, 2	2, 20
α_1	5, 8	0, 34
α_2	13, 8	0, 81
β	29, 8	1, 76
γ	13, 4	0, 79

Tabelle 3:
Quantitative Aufschlüsselung der elektrophoretischen Untersuchung bei Versuchstier Prt. Nr. H 110/66 4 Wochen nach der Applikation von 9, 4 mCi/kg ^{198}Au.

b) Allgemeinverhalten

Während der etwa 3 Monate dauernden Versuchszeit war der Allgemeinzustand des Tieres unauffällig, abgesehen von Diarrhoen am 3. und 4. Tag nach der letzten Radiogoldinjektion. Die Gewichtszunahme betrug 3, 5 kg bei einem Anfangsgewicht von 4, 1 kg.

Am Ende der eigentlichen Untersuchungsperiode zeigte das Versuchstier äußerlich und im Verhalten keine Besonderheiten. 14 Tage später fiel dann eine allgemeine Unlust, verminderte Aktivität und Zunahme des Abdominalumfanges auf; langsam trat eine fortschreitende Verschlechterung des Allgemeinzustandes ein. Fast 4 1/2 Monate nach Versuchsbeginn erfolgte spontan der Exitus.

c) Sektionsbefund

1. makroskopisch:

das Versuchstier befand sich in deutlich reduziertem Ernährungszustand.

Thorax: ein seröser, rötlich-klarer Erguß von ca. 70 ml fand sich in beiden Pleurahöhlen. Während die rechte Lunge gut belüftet erschien, zeigte die linke Lunge umschriebene, atelektatische Bezirke.

Der Herzbeutel enthielt eine geringe Ansammlung einer rötlich-klaren Flüssigkeit. Subepicardial bestanden multiple bis stecknadelkopfgroße Blutungen.

Der Thymus war trotz genauer Untersuchung nicht auffindbar.

Abdomen: bei Eröffnung entleerte sich eine relativ große Menge rötlich gefärbter, klarer Ascitesflüssigkeit. Leber und Milz waren deutlich verkleinert. Die Oberfläche der Leber zeigte eine kleinhöckrige Struktur, die auch auf der Schnittfläche in gelblichem Farbton sichtbar wurde. Die Milz imponierte als schmales, dunkelbraunes Organ. Die übrigen Intestinalorgane erschienen äußerlich unauffällig.

2. histologisch:

Leber: es bestanden hochgradige Veränderungen mit Verbreiterung und Kollagenisierung der Glisson'schen Felder. Außer der Polymorphie der Leberzellen fanden sich kleinere und größere, zusammenfließende Nekrosen, reichlich Gallethromben sowohl intrazellulär als auch in den Gallekapillaren und in den etwas größeren Gallengängen. Die Grenzlamellen blieben zumeist erhalten. Zusätzlich ließen sich einige Rundzelleninfiltrate in den Glisson'schen Feldern und in den Kapillaren nachweisen. Im allgemeinen bestand eine geringfügige, grobtropfige Fettablagerung.

Das mit Spezialfärbemethoden als Gold analysierte Pigment wurde sowohl intrazellulär in den geschwollenen Sternzellen als auch extrazellulär in kleinen Häufchen angeordnet gefunden.

Milz: Es bestand eine ausgeprägte Fibrose der Trabekel mit deutlicher Reduktion des eigentlichen Lymphgewebes. Das retikuläre Gewebe wies eine leichte Hyperplasie auf. Nennenswerte Goldablagerungen konnten nicht nachgewiesen werden.

Herz: dieses Organ ließ keine wesentlichen pathologischen Veränderungen erkennen, insbesondere keine Nekrosen und keine zelligen Infiltrate.

Lungen: relativ zahlreiche Leukocyten und Lymphocyten zeigten sich in den Lichtungen der Bronchien, stellenweise auch peribronchial in Form kleinerer Bronchopneumonien. Neben herdförmigen Atelektasen fanden sich kompensatorische, ungleich ausgedehnte emphysematische Bezirke. Die Gefäße waren erweitert und prall mit Blut gefüllt. Eine Pigmentablagerung konnte auch hier nicht nachgewiesen werden.

Nieren: die Tubuli wiesen eine geringgradige, trübe Schwellung der Epithelien auf; in den Lichtungen fand sich stellenweise eine eosinophile Flüssigkeit. Die Glomerula erschienen unauffällig. Insgesamt waren keine zelligen Infiltrate und keine Nekrosen zu erkennen. Auch in diesen Organen wurden keine Goldablagerungen gesehen.

B. ^{198}AU-APPLIKATION UND HAUTTRANSPLANTATION BEI DER RATTE

a) Vorversuche

Gruppe I (2 Versuchstiere Prt. Nr. R 44/67 und R 45/67, 2,1 bzw. 1,4 mCi/100 g ^{198}Au-Kolloid)

Abbildung 2 zeigt das Verhalten des weißen Blutbildes bei Versuchstier Prt. Nr. R 44/67 nach der Applikation von 2,1 mCi ^{198}Au. Es erfolgte ein steiler Abfall der Leukocyten von 11800/mm^3 auf einen Tiefpunkt am 9. Tage mit 1900/mm^3, entsprechend 16 % des Ausgangswertes. Im weiteren Verlauf konnte ein langsamer, kontinuierlicher Anstieg beobachtet werden; 9 Wochen nach der Radiogoldinjektion aber lag die Zahl der weißen Blutzellen mit 6900/mm^3 noch 41 % unterhalb des Ausgangswertes.

Die lymphoiden Zellen sanken von ursprünglich 9700/mm^3 auf 1000/mm^3 am 3. Tag und zeigten vom 11. Tag an wieder einen Anstieg. Der relative Anteil der lymphoiden Zellen reagierte sofort nach der Bestrahlung mit einer Reduktion um die Hälfte des Ausgangswertes und ließ vom 9. Tag an einen deutlichen Anstieg erkennen. Während die relativen Werte der lymphoiden Zellen ihren Ausgangswert bis zum Versuchsende

annähernd erreichten, lag die absolute Zellzahl mit 5100/mm^3 noch 46% darunter.

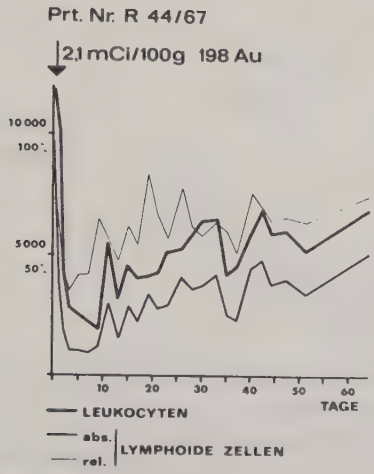

Abbildung 2:
Leukocyten und lymphoide Zellen bei Versuchstier Prt. Nr. R 44/67 nach Applikation von 2,1 mCi/100 g ^{198}Au.

Wie Abbildung 3 zeigt, erfolgte bei Versuchstier Prt. Nr. R 45/67 nach der Applikation von 1,4 mCi ^{198}Au ein allmählicher Abfall der Leukocyten von 8300/mm^3 auf ein Minimum am 9. Tag von 2900/mm^3, entsprechend 35% des Ausgangswertes. Dieser wurde in einem langsamen Anstieg nach etwa 6 Wochen wieder erreicht, am Versuchsende nach 9 Wochen jedoch lag die Leukocytenzahl bei 5400/mm^3.

Die lymphoiden Zellen, ausgehend von 6200/mm^3, waren vom 5. bis zum 11. Tag auf einen absoluten Wert kleiner als 2000/mm^3 reduziert mit einem Minimum am 7. Tag von 1600/mm^3. Der relative Anteil fiel sofort nach der Radiogoldinjektion auf etwa 50% des Ausgangswertes, ein kontinuierlicher Anstieg setzte vom 9. Tag an ein. Die lymphoiden Zellen erreichten sowohl in ihren absoluten als auch in ihren relativen

Zahlen den Ausgangswert, wenn auch der Wert am Versuchsende deutlich darunter lag.

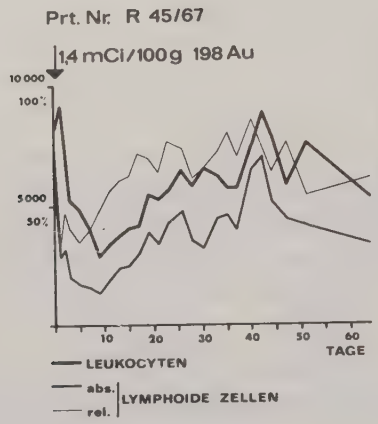

Abbildung 3:
Leukocyten und lymphoide Zellen bei Versuchstier Prt. Nr. R 45/67 nach Applikation von 1, 4 mCi/100 g ^{198}Au.

Die Hämoglobinmessungen, durchgeführt am 17. und 64. Tag nach der Radiogoldbehandlung, ergaben für beide Versuchstiere die in Tabelle 4 eingetragenen Werte.

Tage nach ^{198}Au-Applikation	R 44/67 Hämoglobin (g%)	R 45/67 Hämoglobin (g%)
17	12, 0	14, 7
64	13, 6	13, 5

Tabelle 4:
Hämoglobinwerte von 2 Versuchstieren (Gruppe I) nach der ^{198}Au-Applikation von 2, 1 mCi/100 g bzw. 1, 4 mCi/100 g.

Das Allgemeinverhalten der Tiere war unauffällig, die Ausgangsgewichte von 185 g und 178 g änderten sich während der Beobachtungszeit nicht.

Die Versuchstiere wurden am 64. Tag nach der Radiogoldapplikation getötet. Der makroskopische Sektionsbefund zeigte keine Besonderheiten, die Naßgewichte der Leber und Milz sind aus Tabelle 5 zu ersehen.

Prt. Nr.	Lebergewicht absolut (g)	Lebergewicht (g/100g)	Milzgewicht (g)
R 44/67	8, 6	5, 4	0, 6
R 45/67	7, 3	4, 0	0, 7
$\overline{m}$		4, 7	

Tabelle 5:
Gewichte von Leber und Milz bei Gruppe I

Gruppe II (5 Versuchstiere Prt. Nr. R 153/67 - R 157/67, Transplantation von Haut ohne Radiogoldbehandlung des Empfängers)

Die Hautlappen selbst wurden von Spendern entnommen, die 2 Tage vorher eine Radiogoldinjektion erhalten hatten. Dabei betrug die mittlere Überlebenszeit der Transplantate 6, 4 Tage und schwankte zwischen 4 und 10 Tagen.

In den 5 Wochen der Versuchsdauer wurden bei jedem Tier 12 Blutentnahmen durchgeführt und das Verhalten der Leukocyten und lymphoiden Zellen nach Hauttransplantation geprüft (Abbildung 4). Wenn auch die Leukocyten zwischen der 2. und 3. Woche meist vermehrt erschienen, so war doch ein signifikanter Verlauf nicht zu erkennen.

Viermal erfolgte die Bestimmung der Hämoglobinwerte, die in dieser Zeit eine mittlere Schwankungsbreite bei den 5 Tieren von 12, 8 g% bis 15, 5 g% ergaben.

Bei den Gewichtskontrollen fiel in der 1. Woche nach der Hauttransplantation ein mäßiger Gewichtsabfall von durchschnittlich 4, 4 g mit Schwankungen zwischen 2 g und 6 g auf, der sich im Laufe der 2. und 3. Woche wieder ausglich.

Nach 34 Tagen wurden die Tiere aus dem Versuch genommen.

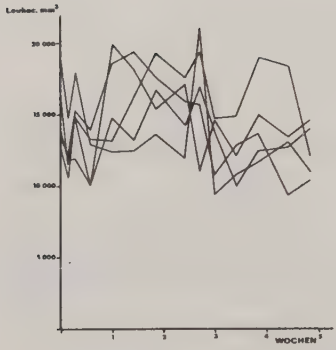

Abbildung 4:
Leukocyten bei 5 Versuchstieren (Gruppe II) nach Transplantation von Haut ohne ^{198}Au.

Gruppe III (11 Versuchstiere Prt. Nr. R 180/67 - R 190/67, Transplantation von Haut ohne Radiogoldbehandlung des Empfängers)

Die Transplantate stammten fast alle von Spendern, die 2 Tage vorher Radiogold bekommen hatten. Bei dieser Gruppe erfolgte keine Blutentnahme.

Die mittlere Transplantatüberlebenszeit betrug hier 8, 0 Tage mit einer Schwankungsbreite von 2 bis 20 Tagen.

Während ungefähr ein Drittel der Tiere am 1. Tag nach der Transplantation einen geringfügigen Gewichtsabfall erlitt, zeigten alle Transplantatempfänger in der folgenden Zeit eine kontinuierliche Gewichtszunahme.

Zwischen dem 20. und 88. Tag nach Versuchsbeginn wurden die Tiere getötet und seziert. Der Sektionsbefund ergab keine Besonderheiten, die Gewichte der Leber und Milz sind der Tabelle 6 zu entnehmen.

Wenn man das Lebergewicht auf 100 g Körpergewicht bezog, dann ließ sich bei 10 Versuchstieren ein Durchschnittswert von 5, 3 g/100g mit einer Schwankungsbreite von 4, 6 g bis 6, 1 g ermitteln.

Prt. Nr.	Lebergewicht absolut (g)	Lebergewicht (g/100g)	Milzgewicht (g)
R 180/67	15, 9	5, 6	1, 0
R 181/67	12, 5	5, 2	1, 2
R 182/67	14, 7	4, 6	0, 7
R 183/67	14, 8	6, 0	0, 7
R 185/67	9, 4	5, 0	0, 9
R 186/67	10, 7	5, 5	1, 1
R 187/67	10, 3	6, 1	0, 6
R 188/67	7, 8	4, 6	0, 9
R 189/67	9, 0	4, 7	0, 6
R 190/67	9, 2	5, 5	0, 7
$\overline{m}$		5, 3	

Tabelle 6:
Gewichte der Leber und Milz von 10 Versuchstieren (Gruppe III) ohne ^{198}Au-Applikation

b) ^{198}Au in unterschiedlicher Dosierung und Haut-Homotransplantation

Gruppe IV (3 Versuchstiere mit 2, 4 mCi/100 g ^{198}Au-Kolloid, Prt. Nr. R 84/67 bis 86/67, 3 mit 3, 5 mCi/100 g ^{198}Au-Kolloid, Prt. Nr. R 81/67 bis 83/67, 2 Tage später Haut-Homotransplantation)

Eine Übersicht über die Transplantatveränderungen sowie die Überlebenszeiten der Versuchstiere wurde in Tabelle 7 zusammengestellt. Es ergab sich bei 4 Versuchstieren bis zum Zeitpunkt des Todes ein äußerlich unauffälliges Transplantat in sehr gutem Zustand; die beiden anderen Tiere, mit der kleineren Radiogolddosis vorbehandelt, zeigten Abstoßungsreaktionen am 5. Tag (Prt. Nr. R 85/67) bzw. am 7. Tag (Prt. Nr. R 84/67).

Prt. Nr.	Dosis ^{198}Au (mCi/100g)	Überlebenszeit (Tage)	Zustand des Transplantates
R 84/67	2, 4	11	abgestoßen
R 85/67	2, 4	13	abgestoßen
R 86/67	2, 4	11	funktionstüchtig
R 81/67	3, 5	7	funktionstüchtig
R 82/67	3, 5	11	funktionstüchtig
R 83/67	3, 5	8	funktionstüchtig

Tabelle 7:
Überlebenszeiten und Zustand des Transplantates von 6 Versuchstieren (Gruppe IV) zum Zeitpunkt des Todes; die Haut-Homotransplantation erfolgte 2 Tage nach ^{198}Au-Applikation.

Die mittlere Überlebenszeit der Versuchstiere mit 2, 4 mCi ^{198}Au betrug 11, 7 Tage, mit 3, 5 mCi ^{198}Au 8, 7 Tage.

Die Kontrollen des weißen Blutbildes ließen bei allen 6 Versuchstieren einen annähernd gleichen Verlauf erkennen: während die lymphoiden Zellen schon 2 Tage nach der Radiogoldinjektion ein Minimum von 100 bis 200/mm^3 erreichten, wiesen die Leukocyten erst am 5. Tag ihre niedrigsten Werte auf, die kleiner als 500/mm^3 waren. Insgesamt lag also eine Reduktion der lymphoiden Zellen und der Leukocyten um mehr als 90% vom Ausgangswert vor. Bis zum Exitus der Versuchstiere konnte auch kein Anstieg mehr beobachtet werden.

Gleichzeitig fielen die Erythrocyten-, Thrombocyten- und Hämoglobinwerte kontinuierlich ab, wie Tabelle 8 zu entnehmen ist. (S. 27)

Tage nach ^{198}Au-Appl.	Prt. Nr.	Hb (g%)	Erythrocyten (Mill. /mm^3)	Thrombocyten pro mm^3
0	R 81/67	15, 3	5, 4	331000
3		13, 8	5, 3	301000
0	R 82/67	14, 3	5, 6	350000
3		13, 6	5, 3	331000
7		11, 6	4, 6	184000
0	R 83/67	14, 8	5, 9	363000
3		14, 4	5, 8	343000
7		12, 1	4, 9	85000
0	R 84/67	13, 0	5, 4	322000
3		11, 0	5, 0	336000
7		8, 1	3, 2	81000
0	R 85/67	12, 8	4, 9	258000
3		10, 8	4, 9	315000
7		8, 9	3, 7	105000
0	R 86/67	14, 7	5, 5	248000
3		12, 8	5, 5	314000
7		4, 1	2, 2	145000

Tabelle 8:
Verhalten des Hämoglobins, der Erythrocyten und der Thrombocyten bei Gruppe IV.

Das Allgemeinverhalten der Tiere war gekennzeichnet durch zunehmende Apathie und starken Gewichtsabfall. Bei der Sektion zeigte sich eine mäßige Parenchymreduktion von Leber und Milz.

Gruppe V (3 Versuchstiere mit 1,8 mCi/100 g ^{198}Au-Kolloid, Prt. Nr. R 117/67 bis 119/67, 2 Versuchstiere mit 2,1 mCi/100 g ^{198}Au-Kolloid, Prt. Nr. R 120/67 und 122/67, 2 Tage später Hauttransplantation)

Eine Übersicht von den Überlebenszeiten der Transplantate sowie der Versuchstiere wurde in Tabelle 9 zusammengestellt.

Prt. Nr.	Dosis ^{198}Au (mCi/100g)	Überlebenszeit (Tage)	Transplantattoleranz (Tage)
R 117/67	1,8	31	29*
R 118/67	1,8	24	22*
R 119/67	1,8	25	4
R 120/67	2,1	14	7
R 122/67	2,1	∞	7

Tabelle 9:
Überlebenszeiten und Transplantattoleranz von 5 Versuchstieren (Gruppe V) nach 1,8 bzw. 2,1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid und Haut-Homotransplantation 2 Tage später. Versuchsdauer: 48 Tage.
(*Transplantat zum Zeitpunkt des Todes voll funktionsfähig.)

Die mittlere Transplantatüberlebenszeit betrug 13,8 Tage und schwankte zwischen 4 und 29 Tagen. Dabei zeigten die Transplantate von 2 Versuchstieren (R 117/67 und R 118/67) zum Zeitpunkt des Todes 29 bzw. 22 Tage nach der Transplantation äußerlich keine Anzeichen einer beginnenden Abstoßung.

Die mittlere Überlebenszeit von 4 Versuchstieren lag bei 24 Tagen, 1 Tier (Prt. Nr. R 122/67) überlebte die Versuchsperiode und wurde am 48. Tag getötet.

Das Verhalten des weißen Blutbildes dieser 5 Versuchstiere zeigt Abbildung 5. Die Leukocyten erreichten zwischen dem 3. und 6. Tag ein Minimum von 1250/mm^3 bis 2200/mm^3, entsprechend einer durchschnittlichen Reduktion von 81%. Vom 6. Tag an konnte bei 3 Tieren wieder ein deutlicher Anstieg nachgewiesen werden, bei Versuchstier Prt. Nr. R 118/67 erst vom 15. Tag an.

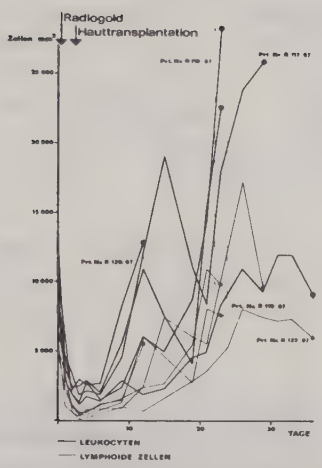

Abbildung 5:
Leukocyten und lymphoide Zellen bei 5 Versuchstieren (Gruppe V) nach 1,8 mCi/100g (Prt.Nr. 117/67, R 118/67, R 119/67) und 2,1 mCi/100g (Prt.Nr. R 120/67, R 122/67) ^{198}Au und Haut-Homotransplantation 2 Tage später.

Die lymphoiden Zellen wiesen bei allen Versuchstieren gleichzeitig am 3. Tag nach der Radiogoldapplikation ein jeweiliges Minimum von 100/mm^3 bis 700/mm^3 auf. Damit lag eine durchschnittliche Reduktion von 95% vor. Eine signifikante Zunahme der lymphoiden Zellen konnte vom 9. Tag an verzeichnet werden mit Ausnahme von Versuchstier Prt.Nr. R 122/67, dessen Werte vom 12. Tag an anstiegen. Der prozentuale Anteil der lymphoiden Zellen an der Gesamtleukocytenzahl (Abbildung 6) verlief etwa parallel zu den absoluten Zahlen; meistens allerdings fiel er ante finem wieder ab, während die Leukocyten zu diesem Zeitpunkt stark erhöht waren.

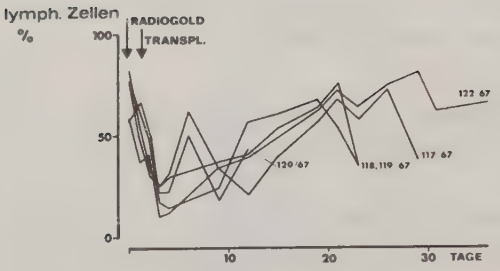

Abbildung 6:
Anteil der lymphoiden Zellen an der Gesamtleukocytenzahl bei 5 Versuchstieren (Gruppe V) nach 1,8 mCi/100g (Prt. Nr. R 117/67, R 118/67, R 119/67) und 2,1 mCi/100g (Prt. Nr. R 120/67, R 122/67) ^{198}Au und Haut-Homotransplantation 2 Tage später.

Eine Zusammenstellung der Hämoglobin- und Erythrocytenwerte erfolgte in Tabelle 10. (S. 31)

Die Gewichtsverläufe wurden in Form der Abweichungen vom Ausgangsgewicht in Tabelle 11 (S. 31) aufgetragen. Dabei war in der 1. Woche nach der Radiogoldapplikation ein Gewichtsabfall von 12 g bis 24 g zu beobachten, der sich jedoch bei 3 Versuchstieren während der 3. Woche wieder dem Ausgangswert näherte. Das Tier Prt. Nr. R 120/67 mit der höheren Dosierung ^{198}Au kam schon vorher ad exitum, während das mit der gleichen Dosis behandelte Tier Prt. Nr. R 122/67 den Gewichtsverlust von 30 g bis zum Versuchsende nach 7 Wochen nicht vollkommen ausgleichen konnte.

Das Allgemeinverhalten erschien während der Versuchsperiode unauffällig, abgesehen von einer zunehmenden Apathie ante finem.

Tage nach ^{198}Au-Appl.	Part. Nr.	Hämoglobin (g%)	Erythrocyten (Mill. /mm^3)
0	R 117/67	11, 0	4, 5
5	"	12, 4	5, 8
19	"	12, 0	3, 7
29	"	14, 4	6, 5
0	R 118/67	16, 4	6, 3
5	"	8, 0	4, 0
19	"	12, 8	4, 3
0	R 119/67	14, 7	6, 0
5	"	14, 3	7, 6
19	"	12, 4	5, 0
0	R 120/67	14, 1	5, 8
5	"	12, 3	6, 7
0	R 122/67	16, 4	6, 4
5	"	13, 2	6, 6
19	"	9, 1	3, 9
29	"	14, 4	5, 1
36	"	13, 8	-
43	"	12, 5	-

Tabelle 10:
Verhalten des Hämoglobins und der Erythrocyten bei Gruppe V

Prt. Nr.	Ausgangs-gewicht (g)	Tage nach ^{198}Au-Applikation									
		3	6	9	12	15	21	26	33	41	48
R 117/67	157	-11	-16	-13	- 4	- 3	+ 1	-13			
R 118/67	157	- 6	-12	- 8	- 3	0	- 4				
R 119/67	153	-11	-15	-19	-15	- 9	- 6				
R 120/67	130	-19	-19	-17	-27						
R 122/67	160	-20	-24	-30	-30	-24	-12	-11	-17	-17	-14

Tabelle 11:
Verhalten der Körpergewichte, dargestellt als Zunahme (+) oder Abnahme (-) vom Ausgangsgewicht bei Gruppe V.

Der Sektionsbefund ergab Organverkleinerungen von Leber und Milz, wie der Tabelle 12 zu entnehmen ist.

Prt. Nr.	Lebergewicht absolut (g)	Lebergewicht (g/100g)	Milzgewicht (g)
R 117/67	2,4	1,8	0,3
R 118/67	2,5	1,6	0,4
R 119/67	2,6	1,9	0,2
R 120/67	4,5	4,4	0,3
R 122/67	6,8	4,7	0,3
$\overline{m}$		2,9	

Tabelle 12:
Gewichte der Leber und Milz bei Gruppe V

c) ^{198}Au in einheitlicher Dosierung und Haut-Homotransplantation

Gruppe VI (8 Versuchstiere, Prt. Nr. R 170/67 - 179/67, 2,1 mCi/100g ^{198}Au, 2 Tage später Hauttransplantation)

Die Überlebenszeit der Transplantate sowie der Versuchstiere wurde im einzelnen in Tabelle 13 aufgeführt. 21,1 Tage betrug die mittlere Transplantatüberlebenszeit, das Versuchstier Prt. Nr. R 172/67 tolerierte sein Transplantat auf Dauer. 3 Versuchstiere zeigten zum Zeitpunkt ihres Todes 5, 9 und 19 Tage nach der Transplantation voll funktionsfähige Transplantate.

Die mittlere Überlebenszeit von 4 Versuchstieren lag bei 17,7 Tagen, die anderen 4 Versuchstiere überlebten die Versuchsperiode von 50 Tagen. Diese wurden entweder 50 Tage (Prt. Nr. R 174/67, R 179/67) oder 64 Tage (Prt. Nr. R 170/67) nach der Radiogoldinjektion getötet. Eine Ausnahme bildete das Versuchstier Prt. Nr. R 172/67, das wegen seines guten Transplantates auch nach dem eigentlichen Versuchsende in Kontrolle blieb und schließlich 89 Tage nach Versuchsbeginn spontan ad exitum kam.

Prt. Nr.	Dosis ^{198}Au (mCi/100g)	Überlebenszeit (Tage)	Transplantattoleranz (Tage)
R 170/67	2,1	∞	49
R 171/67	"	7	5 *
R 172/67	"	∞	∞
R 174/67	"	∞	33
R 175/67	"	11	9 *
R 176/67	"	21	19 *
R 177/67	"	32	26
R 179/67	"	∞	7

Tabelle 13:
Überlebenszeit und Transplantattoleranz von 8 Versuchstieren (Gruppe VI) nach 2,1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid und Haut-Homotransplantation 2 Tage später. Versuchsdauer: 50 Tage. (* Transplantat zum Zeitpunkt des Todes voll funktionsfähig.)

Das Verhalten der Leukocyten von 5 Versuchstieren dieser Gruppe zeigt die Abbildung 7. Nach der Radiogoldapplikation lagen die weißen Blutzellen fast ausnahmslos vom 4. bis 11. Tag zwischen 500/mm^3 und 1500/mm^3, entsprechend einer durchschnittlichen Reduktion von 92, 7%.

Parallel dazu wiesen die absoluten Werte der lymphoiden Zeilen ihr Minimum, das kleiner als 500/mm^3 war, vom 3. bis 11. Tag auf. Das entsprach einer mittleren Reduktion von 97, 9%. Der relative Anteil der lymphoiden Zellen am weißen Blutbild (Abbildung 8) lag vom 3. bis 5. Tag bei einem Minimum zwischen 10% und 30% und nahm mit Ausnahme von Versuchstier Prt. Nr. R 175/67, das einige Tage später ad exitum kam, vom 5. Tag an wieder zu. Aber erst am Beginn der 3. Woche konnte ein deutlicher Anstieg der absoluten Werte der lymphoiden Zellen sowie der Leukocyten insgesamt beobachtet werden. Die überlebenden Tiere mit Blutbildkontrollen erreichten ihre Ausgangswerte etwa 20 Tage nach der Radiogoldinjektion.

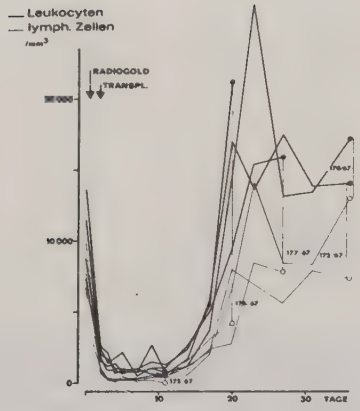

Abbildung 7:
Leukocyten und lymphoide Zellen von 5 Versuchstieren (Gruppe VI) nach 2,1 mCi/100g ^{198}Au und Haut-Homotransplantation 2 Tage später.

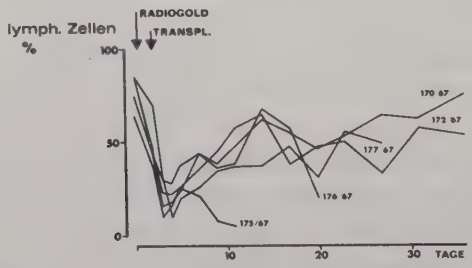

Abbildung 8:
Anteil der lymphoiden Zellen an der Gesamtleukocytenzahl bei 5 Versuchstieren (Gruppe VI) nach 2,1 mCi/100g ^{198}Au und Haut-Homotransplantation 2 Tage später.

Eine Zusammenstellung der Hämoglobinwerte, deren Bestimmung auch bei 5 Versuchstieren durchgeführt wurde, erfolgte in Tabelle 14. Dabei ließen die Kontrollen 9 und 20 Tage nach der Radiogoldapplikation meistens einen erniedrigten Hämoglobinspiegel erkennen, der nach 31 Tagen wieder annähernd im Bereich der Norm lag.

Tage nach ^{198}Au-Appl.	Prt. Nr.	Hämoglobin (g%)
0	R 170/67	14, 2
9	"	5, 3
20	"	5, 3
31	"	14, 6
0	R 172/67	16, 7
9	"	12, 0
20	"	9, 9
31	"	14, 9
0	R 175/67	14, 5
9	"	3, 5
0	R 176/67	12, 7
9	"	9, 7
20	"	6, 0
0	R 177/67	14, 7
9	"	12, 3
20	"	12, 8
31	"	13, 7

Tabelle 14:
Verhalten des Hämoglobins bei 5 Versuchstieren der Gruppe VI

Die Gewichtsverläufe in Form der Abweichungen vom Ausgangsgewicht sind in Tabelle 15 zusammengestellt. 2 Wochen nach der Radiogoldapplikation hatten 50% der Versuchstiere ihr Ausgangsgewicht überschritten und 50% lagen noch darunter. Nach 4 Wochen wiesen alle überlebenden Tiere ein höheres Körpergewicht als bei Versuchsbeginn auf.

Prt. Nr.	Ausgangs-gewicht (g)	Tage nach ^{198}Au-Applikation									
		3	4	5	7	14	21	28	35	42	50
R 170/67	177	- 1	0	- 3	0	-15	+10	+36	+64	+ 80	+ 88
R 171/67	177	- 5	- 8	-11	-25						
R 172/67	151	-13	- 4	- 9	- 6	- 7	-11	+ 4	+13	+ 34	+ 47
R 174/67	139	- 8	- 8	- 6	+ 6	+39	+62	+73	+86	+106	+128
R 175/67	159	- 6	- 9	-10	- 7						
R 176/67	149	-13	-13	-15	-13	+12	0				
R 177/67	157	- 2	0	- 3	+ 4	+12	+15	+12			
R 179/67	167	- 9	-10	-11	-11	- 2	+ 4	+10	+ 9	+ 18	+ 26

Tabelle 15:
Verhalten der Körpergewichte, dargestellt als Zunahme (+) oder Abnahme (-) vom Ausgangsgewicht bei Gruppe VI.

Das Allgemeinverhalten war mit Ausnahme von Versuchstier Prt. Nr. R 179/67, das intermittierend apathische Zustände zeigte, unauffällig; bei 2 Tieren stellte sich ante finem eine Apathie ein. In der verlängerten Beobachtungszeit bei Versuchstier Prt. Nr. 172/67 fiel etwa 11 Wochen nach der Radiogoldapplikation eine gelbliche Verfärbung der Haut auf, die im Verlauf der nächsten Wochen an Intensität zunahm. Gleichzeitig trat eine leicht apathische Verhaltensweise auf. 3 Wochen nach Beginn dieser Erscheinungen kam das Tier ad exitum.

Der Sektionsbefund ergab makroskopisch sichtbare Veränderungen in Form von Ascites bei den Versuchstieren Prt. Nr. R 170/67 und R 172/67, in Form einer Cholostase bei Prt. Nr. R 177/67. Die Organgewichte von Leber und Milz wurden in Tabelle 16 zusammengestellt. Die Lebergewichte lagen im allgemeinen zwischen 3, 2 g und 4, 2 g pro 100g Körpergewicht mit Ausnahme von Versuchstier Prt. Nr. R 177/67, dessen Leber 1, 9 g/100g wog.

Prt. Nr.	Lebergewicht absolut (g)	Lebergewicht (g/100g)	Milzgewicht (g)
R 170/67	11, 0	4, 2	0, 8
R 171/67	8, 0	5, 3	0, 4
R 172/67	6, 3	3, 2	0, 4
R 174/67	13, 2	4, 9	0, 9
R 175/67	5, 1	4, 0	0, 2
R 176/67	5, 3	3, 6	0, 2
R 177/67	3, 2	1, 9	0, 5
R 179/67	7, 8	4, 0	0, 7
$\overline{m}$		3, 9	

Tabelle 16:
Gewichte der Leber und Milz der Gruppe VI

d) ^{198}Au in einheitlicher Dosierung und Variation des Zeitpunktes der Hauttransplantation

Gruppe VII (9 Versuchstiere, Prt. Nr. R 200/67 - R 210/67, Hauttransplantation einen Tag vor der Applikation von 2, 1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid)

Die Überlebenszeit der Transplantate sowie der Versuchstiere wurde im einzelnen in Tabelle 17 aufgeführt. Die mittlere Überlebenszeit der

Prt.Nr.	Dosis ^{198}Au (mCi/100g)	Überlebenszeit (Tage)	Transplantattoleranz (Tage)
R 200/67	2, 1	18	10
R 202/67	"	∞	17
R 204/67	"	∞	9
R 205/67	"	∞	8
R 206/67	"	19	20 *
R 207/67	"	15	16 *
R 208/67	"	18	6
R 209/67	"	26	27 *
R 210/67	"	∞	∞

Tabelle 17:
Überlebenszeiten und Transplantattoleranz von 9 Versuchstieren (Gruppe VII) nach 2, 1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid und Haut-Homotransplantation 1 Tag vorher. Versuchsdauer: 50 Tage. (* Transplantat zum Zeitpunkt des Todes voll funktionsfähig.)

Transplantate betrug 14, 1 Tage, dabei tolerierte das Versuchstier Prt. Nr. R 210/67 sein Transplantat auf Dauer. 3 Transplantate zeigten zum Zeitpunkt des Todes des Empfängers 16, 20 und 27 Tage nach der Transplantation keine Anzeichen einer beginnenden Abstoßung.

Die mittlere Überlebenszeit von 5 Versuchstieren, die innerhalb der Versuchsperiode von 50 Tagen spontan ad exitum kamen, lag bei 19, 2 Tagen mit einer Streubreite von 15 bis 26 Tagen. 4 Tiere überlebten auf Dauer, davon wurden 3 nach 50 Tagen getötet, und 1 Versuchstier Prt. Nr. R 210/67 blieb wegen des funktionstüchtigen Transplantates weiterhin in Beobachtung.

Die Gewichtsverläufe wurden in Form der Abweichungen vom Ausgangsgewicht in Tabelle 18 eingetragen. Während in den ersten 2 Wochen nach

Prt. Nr.	Ausgangsgewicht (g)	Tage nach ^{198}Au-Applikation							
		4	7	14	21	29	37	43	50
R 200/67	178	-14	-10	- 9					
R 202/67	151	- 7	- 3	+ 5	+16	+24	+40	+43	+44
R 204/67	165	- 1	+ 9	+10	+23	+37	+57	+52	+58
R 205/67	182	-27	-30	-22	-17	-11	- 7	- 7	- 7
R 206/67	160	- 8	- 6	- 4					
R 207/67	158	- 5	0	-21					
R 208/67	170	- 8	- 1	- 6					
R 209/67	190	-11	-13	- 9	- 6				
R 210/67	168	-10	- 7	- 4	+ 6	0	+11	+ 7	+ 2

Tabelle 18:
Verhalten der Körpergewichte, bezogen auf das Ausgangsgewicht bei Gruppe VII

der Radiogoldapplikation vorwiegend Gewichtsabnahmen, maximal bis zu 30 g beobachtet wurden, konnte in den folgenden Wochen bei den 4 überlebenden Versuchstieren eine regelmäßige Zunahme festgestellt werden.

Das Allgemeinverhalten von 8 Versuchstieren erschien unauffällig, wenn auch davon 3 Tiere 1 bis 4 Tage ante finem einen apathischen Zustand erkennen ließen. Nur das Versuchstier Prt. Nr. R 202/67 zeigte am 2. Tag nach der Radiogoldeinwirkung eine leicht apathische Verhaltensweise und am 25. Tag eine vorübergehende Polyurie und Diarrhoe.

Bei der Sektion fielen bei 50% der Tiere pathologische Veränderungen in Form von Cholostase oder vermehrter Flüssigkeitsansammlung in den Pleurahöhlen auf (Prt. Nr. R 200/67, 207/67, 208/67, 209/67). Die Gewichte von Leber und Milz sind der Tabelle 19 zu entnehmen. 3 Versuchstiere hatten ein relatives Lebergewicht zwischen 4, 7 g und 5, 7 g/100g, die übrigen Lebergewichte lagen erheblich darunter.

Prt. Nr.	Lebergewicht absolut (g)	Lebergewicht (g/100g)	Milzgewicht (g)
R 200/67	2, 9	1, 9	0, 3
R 202/67	11, 2	5, 7	0, 7
R 204/67	11, 2	5, 0	0, 7
R 205/67	8, 2	4, 7	0, 6
R 206/67	2, 6	1, 8	0, 3
R 207/67	2, 7	2, 0	0, 1
R 208/67	3, 3	2, 1	0, 2
R 209/67	2, 9	1, 6	0, 5
R 210/67	-	-	-
$\overline{m}$		3, 1	

Tabelle 19:
Gewichte der Leber und Milz bei Gruppe VII

Gruppe VIII (11 Versuchstiere, Prt. Nr. R 248/67 - R 259/67, Hauttransplantation 3 Tage vor der Applikation von 2, 1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid)

Die Überlebenszeit der Transplantate sowie der Versuchstiere wurde im einzelnen in Tabelle 20 aufgeführt. Die mittlere Überlebenszeit der Transplantate betrug 16, 4 Tage (9 Versuchstiere). Die Empfänger Prt. Nr. R 252/67 und R 253/67 tolerierten ihre Transplantate auf Dauer. 2 Versuchstiere (Prt. Nr. R 251/67 und R 255/67) hatten zum Zeitpunkt ihres Todes 19 und 23 Tage nach der Transplantation voll funktionsfähige Transplantate.

Die mittlere Überlebenszeit nach der Radiogoldapplikation lag für 6 Versuchstiere, die innerhalb der Versuchsperiode von 50 Tagen spontan ad exitum kamen, bei 21, 8 Tagen mit einer Streubreite von 11 bis 47 Tagen. 5 Versuchstiere überlebten auf Dauer, davon wurden 3 (Prt. Nr. R 249/67, 256/67, 258/67) 50 Tage nach der Radiogoldinjektion getötet. 2 Versuchstiere (Prt. Nr. R 252/67 und R 253/67) blieben wegen ihrer funktionstüchtigen Transplantate weiterhin in Beobachtung.

Prt. Nr.	Dosis ^{198}Au (mCi/100g)	Überlebenszeit (Tage)	Transplantattoleranz (Tage)
R 248/67	2,1	11	5
R 249/67	"	∞	48
R 251/67	"	16	19 *
R 252/67	"	∞	∞
R 253/67	"	∞	∞
R 254/67	"	25	6
R 255/67	"	20	23 *
R 256/67	"	∞	5
R 257/67	"	47	24
R 258/67	"	∞	9
R 259/67	"	12	9

Tabelle 20:
Überlebenszeit und Transplantattoleranz von 11 Versuchstieren (Gruppe VIII) nach 2,1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid und Haut-Homotransplantation 3 Tage vorher. Versuchsdauer: 50 Tage. (* Transplantat zum Zeitpunkt des Todes voll funktionsfähig.)

Den Verlauf der Körpergewichte, aufgezeichnet in Form der Abweichungen vom Ausgangsgewicht, gibt Tabelle 21 wieder.

Prt. Nr.	Ausgangs-	Tage nach ^{198}Au-Applikation							
	gewicht (g)	4	7	14	19	25	34	41	50
R 248/67	121	-11	-15						
R 249/67	124	-12	- 9	+21	+36	+51	+56	+66	+61
R 251/67	126	-11	-15	+10					
R 252/67	122	-13	-23	- 2	+ 5	+16	+38	+46	+53
R 253/67	122	- 6	- 8	+ 8	+18	+16	+ 3	+13	+28
R 254/67	168	-10	-12	+18	+12				
R 255/67	164	-12	-21	-10	-14				
R 256/67	161	-35	-39	-11	+14	+29	+59	+69	+79
R 257/67	142	- 9	-18	+18	+33	+38	+48	+38	
R 258/67	159	-10	- 4	+14	+41	+46	+86	+111	+126
R 259/67	164	- 6	- 1						

Tabelle 21:
Verhalten der Körpergewichte, bezogen auf das Ausgangsgewicht bei Gruppe VIII

Die Gewichtsverluste in der ersten Woche nach der Radiogoldapplikation, die maximal 39 g betrugen (Prt. Nr. R 256/67), konnten im Verlauf der 2. und 3. Woche von 8 Tieren wieder ausgeglichen werden. Die 5 überlebenden Versuchstiere zeigten auch weiterhin eine kontinuierliche Zunahme. Bei den Tieren, die spontan ad exitum kamen, war ante finem ein erneuter Gewichtsabfall nachzuweisen.

Das Allgemeinverhalten aller Tiere erschien während der Versuchsdauer von 50 Tagen unauffällig, nur Versuchstier Prt. Nr. R 258/67 zeigte eine Diarrhoe am 23. Tag nach der Radiogoldapplikation. 4 Tiere ließen 1 bis 3 Tage ante finem einen zunehmend apathischen Zustand erkennen. Eine gelbliche Verfärbung der Haut fiel bei den Versuchstieren Prt. Nr. R 251/67 und 254/67 sowie R 254/67 ante finem, bei Prt. Nr. R 249/67 und 256/67 am Versuchsende auf. Die späteren Kontrollen nach etwa 12 Wochen bei den Versuchstieren Prt. Nr. R 252/67 und 253/67 ergaben auch zu diesem Zeitpunkt noch einen unauffälligen Allgemeinzustand.

Bei der Sektion wurden deutliche Organverkleinerungen insbesondere bei den spontan ad exitum gekommenen Tieren festgestellt, wie im einzelnen der Tabelle 22 zu entnehmen ist.

Prt. Nr.	Lebergewicht absolut (g)	Lebergewicht (g/100g)	Milzgewicht (g)
R 248/67	2, 4	2, 3	0, 1
R 249/67	9, 1	4, 9	0, 7
R 251/67	7, 5	5, 5	0, 3
R 252/67	-	-	-
R 253/67	-	-	-
R 254/67	3, 0	1, 7	0, 3
R 255/67	3, 7	2, 5	0, 4
R 256/67	11, 9	5, 0	1, 1
R 257/67	4, 3	2, 5	0, 5
R 258/67	15, 6	5, 5	1, 2
R 259/67	4, 6	3, 3	0, 2
$\overline{m}$		3, 7	

Tabelle 22:
Gewichte der Leber und Milz bei Gruppe VIII.

Weitere pathologische Veränderungen bestanden in Form einer mäßigen Ansammlung von Ascites bei Versuchstier Prt. Nr. R 256/67 und als Pleuraerguß bei Versuchstier Prt. Nr. R 257/67.

e) Histologische Untersuchung von Leber und Milz

Mit der Spezialfärbemethode nach Borchardt-Michaelis konnte das injizierte Gold in verschiedenen Organen der Versuchstiere nachgewiesen werden; jedoch konzentrierte es sich vorwiegend auf die Leber, weniger auf die Milz und fast überhaupt nicht auf andere Gewebe. In der Leber wurde es bevorzugt in den von Kupffer'schen Sternzellen gefunden, seltener sammelte es sich in den Leberzellen selbst an (Abbildung 9).

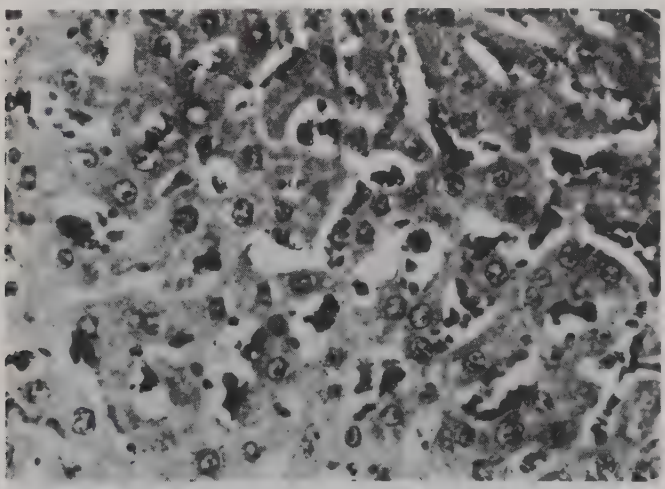

Abbildung 9:
Ablagerungen von Goldpigment fast ausschließlich in den von Kupffer'schen Sternzellen, die geschwollen und hypertrophiert sind (Prt. Nr. R 81/67).
(Paraffin, Goldfärbung nach Borchardt-Michaelis, Vergr. 420:1)

Häufig ließ sich auch eine vermehrte Ablagerung von Eisen in Leber und Milz erkennen. In der quantitativen Verteilung beider Metalle überwog im allgemeinen der Anteil des Goldes in der Leber und der

des Eisens in der Milz.

Die strukturellen Gewebeveränderungen waren in der Leber am vielfältigsten und bei den einzelnen Versuchstieren von ganz unterschiedlichem Ausmaß. Während einige Präparate keinen auffälligen Befund ergaben, wie z.B. Prt.Nr. R 81/67, 120/67, 171/67, 173/67, 174/67 und 204/67, zeigten andere hochgradige Veränderungen: Hyperplasie der Sternzellen, Rundzellinfiltrate, Polymorphie der Leberzellkerne, wabige und vakuoläre Degeneration von Kern und Plasma sowie Einzel- und Gruppennekrosen. Dieses traf besonders für die Prt.Nr. R 85/67, 117/67, 170/67, 172/67, 179/67, 202/67, 206/67 und 208/67 zu. Mit den Abbildungen 10 und 11 werden zwei Präparate demonstriert, von denen das eine (Prt.Nr. R 81/67) einen unauffälligen Leberbefund zeigt, das andere (Prt.Nr. R 206/67) dagegen die geschilderten hochgradigen Veränderungen erkennen läßt.

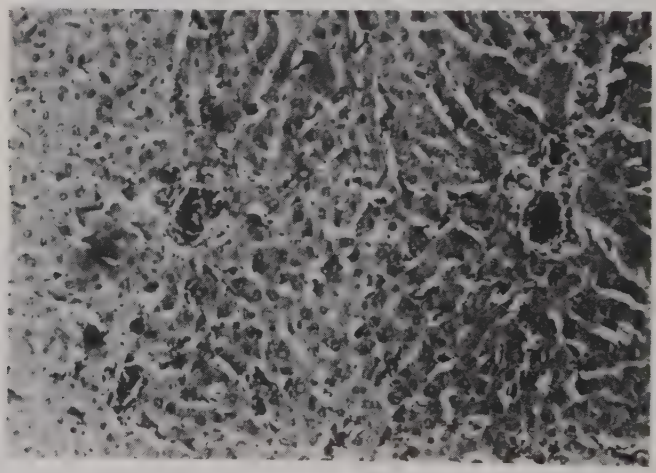

Abbildung 10:
Unauffälliges Lebergewebe (Prt.Nr. R 81/67).
(Paraffin, H.E., Vergr. 160:1)

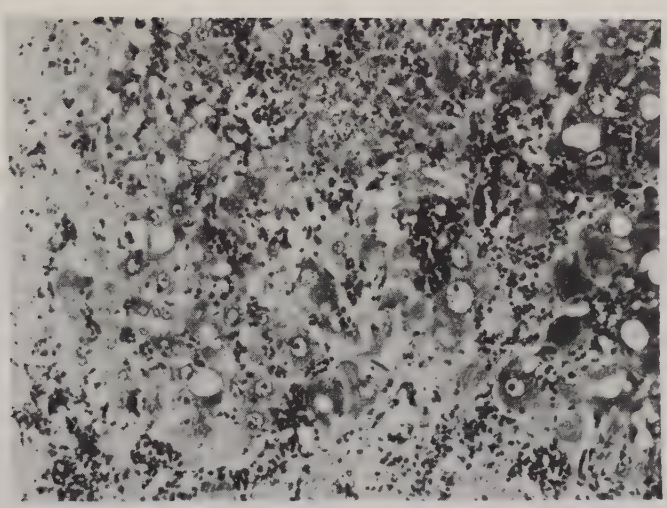

Abbildung 11:
Hochgradig verändertes Lebergewebe (Prt. Nr. R 206/67).
(Paraffin, H.E., Vergr. 160:1)

Die Reaktion der Milz bestand bei den meisten Versuchstieren in einer Atrophie des lymphatischen Gewebes mit einer Hyperplasie der Retikulumzellen und einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Fibrose.

IV. DISKUSSION

Im Einzelversuch an dem Hund sollte primär die Wirkung des intravenös applizierten ^{198}Au-Kolloides auf das weiße Blutbild und seine Verträglichkeit während einer längeren Beobachtungszeit untersucht werden.

Wie sich zeigte, vermochte eine Dosis von 1, 7 mCi/kg zwar kurzfristig die weißen Blutzellen zu reduzieren, keinesfalls aber in einem Ausmaß, wie es meist für die Immunosuppression (McGREGOR and GOWANS (1963), WOLF and HUME (1965)), gefordert wird. Ebensowenig konnten die 4 Tage später zusätzlich applizierten 0, 7 mCi/kg diesen Effekt ausreichend verstärken. Erst nach 9, 4 mCi/kg kam es zu einem deutlichen, progredienten Abfall der Leukocyten bis auf 1000/mm^3 in der 3. Woche. Die lymphoiden Zellen erreichten schon innerhalb der ersten Tage ihr Minimum von 500/mm^3 und blieben dann in ihrer Zellzahl 3 Wochen lang stark erniedrigt. Ihr relativer Anteil an der Gesamtleukocytenzahl dagegen kehrte nach der anfänglichen Reduktion bereits in der 2. Woche auf seinen Ausgangswert zurück, überschritt diesen sogar im Verlauf der 3. und 4. Woche und normalisierte sich schließlich.

Der rapide Abfall der lymphoiden Zellen nach der großen Dosis ^{198}Au-Kolloid ist zunächst einem direkten, strahlenbedingtem Effekt zuzuschreiben. Wenn auch insgesamt die peripheren Lymphocyten als weniger strahlensensibel angesehen werden als die der Lymphknoten (TROWELL 1952), so sprechen doch die Versuche von PICHLMAIER und TREPEL (1966) mit extrakorporaler Bestrahlung des Blutes dafür, daß es innerhalb dieser Gruppe noch Fraktionen gibt, die eine stärkere Empfindlichkeit aufweisen.

Ein sekundärer Wirkungsmechanismus des Radiogoldes, der zu einer Atrophie der Produktionszentren selbst führt, wäre dann für die wochenlang anhaltende Lymphopenie verantwortlich. Bei dem Hund könnten der nicht auffindbare Thymus und die histologischen Bilder der Milz, die eine erhebliche Reduktion des Lymphgewebes mit fibrotischer Umwandlung ergaben, diese Annahme bestätigen. Ob die zeitweise erhöhten relativen Werte der lymphoiden Zellen als Ausdruck einer anfangs noch möglichen kompensatorischen Gegenregulation auf die Lymphopenie anzusehen ist, oder aber die Heilphase eines entzündlich-toxischen

Prozesses - eventuell durch das Radiogold hervorgerufen - darstellen, läßt sich schwer entscheiden. Wahrscheinlicher jedoch erscheint die letztgenannte Vermutung.

Die Wirkung des ^{198}Au-Kolloides in der hier verwandten Dosierung beschränkte sich nicht nur auf eine Zellverminderung in der lymphatischen Reihe, sondern betraf auch temporär die myeloische und die erythrocytäre Reihe des hämatopoetischen Systems, ebenso wie die Thrombocyten. Die papierelektrophoretische Untersuchung 4 Wochen nach der Applikation von 9, 4 mCi/kg zeigte bei annähernd normalem Gesamteiweiß eine Verschiebung in der Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen, insbesondere fiel eine starke Erhöhung der ß-Globuline auf. Das Versuchstier jedoch tolerierte diese Veränderungen ohne äußerlich sichtbare Beeinträchtigung in seinem lebhaften und aktionsfreudigen Verhalten. Erst 4 1/2 Monate nach Versuchsbeginn verschlechterte sich das Allgemeinbefinden, und das Tier kam unter der Verdachtsdiagnose einer portalen Hypertension mit Ascites ad exitum.

Das Schicksal des intravenös applizierten ^{198}Au-Kolloides untersuchte ZILVERSMIT (1952) an Hunden und beobachtete, daß die Substanz innerhalb von wenigen Minuten aus dem Kreislauf absorbiert und von phagocytierenden Organen aufgenommen wird. Der Anteil der Lymphknoten und des Knochenmarks ist dabei verhältnismäßig klein, die Milz speichert 5 bis 10%, der Hauptanteil entfällt mit etwa 85% auf die Leber. Entsprechend wäre dieses Organ am stärksten dem unter Umständen toxischen Einfluß des Radiogoldes ausgesetzt, und pathologische Veränderungen müßten dort zuerst erwartet werden.

Die autoptische, mikroskopische Untersuchung bestätigte dann diese Annahme. Goldpartikel ließen sich in reichlichem Ausmaß in der Leber sowohl intrazellulär in den geschwollenen von Kupffer'schen Sternzellen als auch häufchenweise angeordnet extrazellulär finden. Die Milz dagegen enthielt keine nennenswerten Ablagerungen. Die Reaktion des Lebergewebes bestand im wesentlichen in einer Verbreiterung und Kollagenisierung der Glisson'schen Felder sowie kleineren und größeren Nekroseherden. Diese Form der Umgestaltung machte auch eine Widerstandserhöhung in der Leber verständlich und erklärte durchaus die Entstehung eines Ascites. Es ist allerdings nicht zu beurteilen, inwieweit das Radiogold nur auf Grund seiner Strahlung und nicht auch

durch die Ansammlung des Metalles selbst zu den Gewebeschäden geführt hatten.

Damit war bewiesen, daß das intravenös applizierte ^{198}Au-Kolloid in ausreichender Dosis zu einer länger anhaltenden Lymphopenie beim Hund führt und in seiner Wirkung vergleichbar ist mit der von WHEELER, WHITE und CALNE (1965) angewandten Technik der intralymphatischen Injektion. Die Vorteile der hier angewandten Methode liegen in dem einfacheren und zuverlässigeren Applikationsmodus, durch den jederzeit und ohne großen Aufwand eine erneute Zufuhr der Substanz ermöglicht wird. Als Nachteil ist die temporäre Reduktion aller Blutzellelemente, insbesondere aber eine gewisse Affektion der Leber zu werten.

Intravenöse ^{198}Au-Kolloid Injektionen erzeugen auch bei der Spezies Ratte eine Leukopenie und Lymphopenie, wie PETERS und BAUER (1965) nachgewiesen haben. Daß diese Wirkung sich bei größerer Dosis entsprechend ausgeprägter und länger anhaltend darstellt, demonstrierte ein Vorversuch. Bei weiterer Dosiserhöhung über 2,1 mCi pro 100g war der toxische Effekt so stark, daß die Tiere innerhalb von 2 Wochen ad exitum kamen. Die Zellzählung ergab nach der Bestrahlung einen rapiden Abfall aller korpuskulären Bestandteile, dem kein Anstieg mehr folgte. Dennoch zeigten 2 von 6 Tieren ante finem Abstoßungsreaktionen ihrer Haut-Homotransplantate. Der Sektionsbefund ließ bei einigen Versuchstieren Verfettung und Nekroseherde in der Leber erkennen, bei den anderen dagegen konnten keine Veränderungen festgestellt werden. Man könnte vermuten, daß zur Ausbildung der Gewebeschäden mindestens eine Zeitspanne von 8 bis 10 Tagen nötig sei, um sich auch im histologischen Bild zu manifestieren.

An insgesamt 30 Versuchstieren wurde der immunosuppressive Effekt des ^{198}Au-Kolloides in einer einheitlichen Dosis von 2,1 mCi/100g geprüft. Bei 23% dieser Tiere fanden Blutbildkontrollen statt, die ein signifikantes Verhalten der weißen Blutzellen demonstrierten. Die Leukocyten lagen zwischen dem 4. und 11. Tag nach der Radiogoldinjektion um 1000/mm^3, die lymphoiden Zellen um 500/mm^3. Während die absoluten Lymphocytenzahlen erst zu Beginn der 3. Woche anstiegen, erhöhte sich nach anfänglichem Abfall der relative Anteil dieser Zellen schon vom 5. Tag an. Ob das mit der 2 Tage nach der Bestrahlung durchgeführten Haut-Homotransplantation zusammenhing, erscheint

insofern unwahrscheinlich, als die Haut-Homotransplantation ohne immunosuppressive Maßnahmen keine ähnlichen Veränderungen auslöste.

Ihre Ausgangswerte erreichten die überlebenden Versuchstiere etwa in der 4. Woche nach der Radiogoldapplikation; die Tiere, die innerhalb der Untersuchungsperiode ad exitum kamen, entwickelten meist ante finem eine deutliche Leukocytose. Die nur bei einem Teil der Tiere aufgetretene, temporäre Anämie, zu der sicherlich auch die zahlreichen Blutentnahmen beigetragen haben (FARRIS and GRIFFITH 1949), verlief äußerlich ohne Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens.

Die ^{198}Au-Kolloid Injektion war zwar imstande, eine selektive Lymphopenie bei der Ratte hervorzurufen, aber eine direkte Beziehung zwischen der Zahl der lymphoiden Zellen und dem Zustand des Transplantates ließ sich nicht herstellen. So wurden einerseits Abstoßungsreaktionen bei beträchtlich verminderten Zellzahlen beobachtet, andererseits blieben auch Transplantate trotz erhöhter Werte voll funktionstüchtig. Allgemein wäre hier die Vermutung von PICHLMAYER und TREPEL (1966) in Erwägung zu ziehen, die nicht die gesamte Reduktion der Zellen für entscheidend halten, sondern vielmehr die Schädigung einer bestimmten Fraktion, die durch besondere Strahlensensibilität ausgezeichnet ist, für die Abschwächung immunologischer Reaktionen verantwortlich machen.

An der immunosuppressiven Wirksamkeit des intravenös applizierten ^{198}Au-Kolloides kann jedoch nicht gezweifelt werden. Die mittlere Transplantatüberlebenszeit betrug im Mittel 14,1 Tage bei einer Dosis von 2,1 mCi pro 100 g, im Gegensatz zu 7,2 Tagen bei unbehandelten Kontrolltieren.

Auch der Zeitpunkt der Hauttransplantation schien von gewisser Bedeutung: erfolgte die Hautverpflanzung 2 Tage nach der Radiogoldinjektion, lag die mittlere Transplantatüberlebenszeit bei 11,7 Tagen, erfolgte sie 1 Tag vor der Bestrahlung, verlängerte sich die Überlebenszeit auf 14,1 Tage. Am günstigsten war der Effekt bei den Versuchstieren, die schon 3 Tage vor der Radiogoldbehandlung ihre Hauttransplantate erhielten. Die mittlere Transplantatüberlebenszeit betrug hier 16,4 Tage, 2 Empfänger tolerierten die Spenderhaut sogar auf Dauer. Wahrscheinlich hängt dieses zeitliche Wirkungsoptimum mit dem Höhepunkt der zellulären Immunvorgänge, die vom 2. bis zum 4. Tag nach der Trans-

plantation ablaufen, und der größten Strahlungsintensität zusammen. Ähnliche Ergebnisse konnten auch bei der extrakorporalen Bestrahlung des Blutes erhoben werden.

Die Tatsache, daß die mit Radiogold bewirkte Immunosuppression die Überlebenszeit der Transplantate nur verdoppeln konnte, läßt jedoch keine sicheren Rückschlüsse auf das Verhalten bei Organtransplantationen zu, ist doch bekannt, daß die Haut als hochdifferenziertes Organ die stärksten immunologischen Reaktionen hervorruft (ALEXANDRE, MURRAY 1962).

Mit 53% lag die Letalitätsquote relativ hoch. Verantwortlich dafür waren die teilweise hochgradigen Leberveränderungen, deren Ursachen schon ausführlich beim Hund diskutiert wurden. Abgesehen von manchmal beobachteten cholostatischen Verfärbungen der Leber fand sich bei 63% dieser Versuchstiere ein Organgewicht, das deutlich unter dem Normalwert von 5,3 g/100g Körpergewicht lag.

Die histologisch erkennbaren Gewebereaktionen reichten von Leberzellkernanomalien bis zur Verfettung sowie Einzel- und Gruppennekrosen, das Bild war aber bei gleicher Dosis ganz unterschiedlich. Selbst bei Ratten, die nicht innerhalb der Versuchsdauer ad exitum kamen, sich äußerlich unauffällig verhielten und zum gleichen Zeitpunkt getötet wurden, zeigten sich sowohl unauffällige Leberstrukturen wie schwerwiegende Umgestaltungen.

Goldablagerungen fanden sich erwartungsgemäß mehr in der Leber als in der Milz. Hinzu kam eine verstärkte Ansammlung von Eisenpigment, das auf einen erhöhten Abbau von strahlengeschädigten Erythrocyten zurückgeführt werden könnte.

Wenn die Gewebeveränderungen in der Leber zum größten Teil auf die Metallablagerungen des Goldes und weniger auf einer strahleninduzierten Wirkung beruhten, so könnte man an therapeutische Maßnahmen denken, wie man sie z. B. nach Goldvergiftungen ansetzt. Bewährt hat sich dabei das Dimercaprol, das zu einer weitgehenden Ausschwemmung des sonst womöglich jahrelang im Körper haftenden Goldes führt und dieses gleichzeitig entgiftet. Eine solche Therapie, zu einem geeigneten Zeitpunkt eingeleitet, wäre vielleicht in der Lage, die toxische Komponente in der ^{198}Au-Kolloid-Behandlung erheblich zu reduzieren, ohne die

immunosuppressive Wirkung zu beeinträchtigen.

Die heute allgemein erkennbare Tendenz einer Kombination verschiedener immunosuppressiv wirkender Maßnahmen muß auch hier in Erwägung gezogen werden. Einen diesbezüglich erfolgreichen Ansatz mit Radiogold, allerdings intralymphatisch appliziert, haben WHEELER, WHITE und CALNE (1965) in der Zusammenstellung mit Imuran und zusätzlicher Splenektomie demonstriert. Der Vorteil liegt bei günstiger Kombination nicht nur in einer verlängerten Funktionszeit der Transplantate, sondern vielmehr in einer Wirkung,die eine erhebliche Dosisverkleinerung der einzelnen Substanzen unter Herabsetzung der toxischen Komponente insgesamt ermöglicht.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Unter dem Gesichtspunkt der Transplantationstoleranz wurde die Wirkung des intravenös applizierten ^{198}Au-Kolloides auf das Blutbild und die Überlebenszeiten von Haut-Homotransplantaten untersucht. Dabei ergaben sich folgende Befunde:

1.) Beim Hund führten 0,7 bzw. 1,7 mCi/kg ^{198}Au-Kolloid zu einem mäßigen und kurzfristigen, 9,4 mCi/kg zu einem langfristigen und sehr ausgeprägten Abfall der Zahl der Leukocyten und der lymphoiden Zellen, ohne daß zunächst - abgesehen von der temporären Anämie und Thrombocytopenie - schädliche Nebenwirkungen zu erkennen waren. Erst 4 1/2 Monate nach Versuchsbeginn kam es zu einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes und zur Ausbildung eines Ascites, der durch hochgradige Leberveränderungen bedingt war.

2.) Bei Ratten führte die Injektion von ^{198}Au-Kolloid zu einer Leukopenie, die zum großen Teil auf einer selektiven Reduktion der lymphoiden Zellen beruhte. Ausmaß und Dauer des Effektes erschienen dosisabhängig, ab 2,4 mCi/100g wurde nach einer maximalen Zellverminderung kein Anstieg mehr beobachtet.

3.) Die Überlebenszeit von Haut-Homotransplantaten verlängerte sich bei einer einmaligen Applikation von 2,1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid im Mittel von 7,2 auf 14,1 Tage. Die immunosuppressive Wirkung verstärkte sich, wenn die Injektion erst 3 Tage nach der Hauttransplantation erfolgte.

4.) Die Letalität betrug nach 2,1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid 53%; 2,4 mCi/100g entsprachen einer Dosis letalis von 100%.

5.) Bei 63% der mit 2,1 mCi/100g ^{198}Au-Kolloid behandelten Versuchstieren lagen die Lebergewichte signifikant unterhalb des Normalwertes, der mit 5,3 g/100g ermittelt wurde. Ebenso waren die Milzgewichte zum Teil deutlich erniedrigt.

6.) Die histologischen Präparate der Leber ließen auch bei einheitlicher Dosierung ein vielfältiges Bild erkennen, das sowohl normale Struktur als auch hochgradige Veränderungen zeigte. Die Milz zeichnete sich immer durch eine mehr oder weniger starke fibrotische Umwand-

lung unter Zurücktreten des eigentlichen lymphatischen Gewebes aus.

Der Wirkungsmechanismus und die praktische Bedeutung der intravenösen ^{198}Au-Kolloid-Applikation im Rahmen der allgemeinen Immunosuppression wurden diskutiert.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALEXANDRE, G. P. J., and MURRAY, J. E.: Further studies of renal homotransplantation in dogs treated by combined Imuran therapy.
Surg. Forum 13, 64 (1962)

2. ALEXANDRE, G. P. J., MURRAY, J. E., DAMMIN, G. J., NOLAN, B.: Immunosuppressive drug therapy in canine renal and skin homografts.
Transplantation 1, 432 (1963)

3. BILLINGHAM, R. E., BRENT, L., and MEDAWAR, P. B.: Actively acquired tolerance of foreign cells.
Nature 172, 603 (1953)

4. BITTNER, J. J.: A review of genetic studies on the transplantation of tumours.
J. Genet. 31, 471 (1935)

5. BLUMENSTOCK, D. A., COLLINS, J. A., HECHTMAN, H. B., HOSBEIN, D. J., LEMPERT, N., THOMAS, E. D., FERREBEE, J. W.: Lung transplantation in dog.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 120, 677 (1964)

6. BROSIG, W. und NAGEL, R.: Nierentransplantation.
Walter de Gruyter und Co., Berlin 1965

7. BÜCHERL, E. S.: Grundfragen der Organtransplantation.
Klin. Med. 18, 4 (1963)

8. BURNET, M.: The clonal selection theory of acquired immunity.
Vanderbilt University Press, Nashville (1959)

9. BUSSE, V.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Beeinflussung der Transplantationstoleranz durch Tris-äthylenimino-benzochinon (Trenimon) und einen Kallekreininaktivator (Trasylol).
Dissertationsarbeit Berlin 1967

10. CALNE, R. Y., MURRAY, J. E.: Inhibition of the rejection of renal homografts in dogs by Burroughs Wellcome 57-322.
Surg. Forum 12, 118 (1961)

11. CALNE, R. Y.: Renal transplantation.
Edward Arnold London 1967

12. CHANADA, A. D., BRECHER, G., CRONKITE, E. P., JOEL, D., and SCHNAPPAUF, H. P.: The Influence of ECI of the blood and lymph on skin homograft rejection.
Rad. Res. 27, 330 (1966)

13. CRONKITE, E. P., JANSEN, C. R., MATHER, G. C., NIELSEN, N. O., USENIK, E. A., ADAMIK, E. R. and SIPE, C. R.: Studies on lymphocytes. I. Lymphopenia produced by prolonged extracorporeal irradiation of circulating blood.
Blood 20, 203 (1962)

14. DEMPSTER, W. J.: Kidney homotransplantation.
Brit. J. Surg. 40, 447 (1952)

15. DIDERHOLM, H.: Studies on the migration and transformation of lymphocytes in immunized and non-immunized animals.
Acta Pathol. et microbiol. Scandinav., Supp. 146, Vol. 51 (1961)

16. EISELE, R.: Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung der Toleranz von Haut-Homotransplantaten bei Ratten durch chirurgische und medikamentöse Maßnahmen.
Dissertationsarbeit Berlin 1967

17. ELVES, M. W.: The lymphocytes.
Lloyd-Luke LTD, London 1966

18. FARRIS, E. J., and GRIFFITH, J. Q.: The Rat in Laboratory Investigation.
Lippincott Compl., Philadelphia-London-Montreal 1949

19. FERREBEE, J. W., THOMAS, E. D.: Radiation injury and marrow replacement: factors affecting survival of the host and the homograft.
Ann. Intern. Med. 49, 987 (1958)

20. GOWANS, J. L.: Initiation of immune responses by small lymphocytes.
Nature 196, 651 (1962)

21. GOWANS, J. L.: The role of lymphocytes in the destruction of homografts.
Brit. Med. Bull. 21, 2 (1965)

22. GOWANS, J. L., McGREGOR, D. D., and COWEN, D. M.: The immunologically competent cell: The role of small lymphocytes in the rejection of homografts of skin.
Ciba Found. Study Group 16, 20
J. & A. Churchill Ltd., London 1963

23. HAMBURGER, J., VAYSSE, J., CROSNIER, J., TUBIANA, M., LALANNE, C. M., ANTOINE, B., AUVERT, J., SOULIER, J.-P., DORMONT, J., SALMON, C., MAISONNET, M., AMIEL, J.-L.: Transplantation d'un rein entre jumeaux non monozygotes après irradiation du receveur.
Presse méd. 67, 1771 (1959)

24. HULSE, E. V.: Lymphocyte depletion of the blood and bone marrow of the irradiated rat: A quantitative study.
Brit. J. Haemat., 5, 278 (1959)

25. HUME, D. M.: Experimental and clinical homotransplantation of kidney.
In: Peer's Transplantation of tissues, Vol. II.,
Williams & Wilkins, Baltimore 1959

26. JANTET, G. H.: Direct intralymphatic injections of radioactive colloidal gold in the treatment of malignant disease.
Brit. J. Radiol. 35, 418, 692 (1962)

27. JANTET, G. H., EDWARDS, J. M., GOUGH, M. H., and KINMONTH, J. B.: Endolymphatic therapy with radioactive gold for malignant melanoma.
Brit. Med. J. 2, 904 (1964)

28. JORKE, D.: Die Lymphoidzellen des Blutes. Hämatologie und Bluttransfusionswesen, Band 2
Akademie Verlag Berlin, 1963

29. LARGIADER, F.: Organtransplantation.
Thieme Verlag Stuttgart 1966

30. LITTLE, R. C., KELLY, H. B.: Removal of radioactive gold colloid by the perfused Mammalian liver.
Amer. J. Physiol. 173, 265 (1953)

31. McGREGOR, D. D., and GOWANS, J. L.: The antibody response of rats depleted of lymphocytes by chronic drainage from the thoracic duct.
J. exp. Med. 117, 303 (1963)

32. MEDAWAR, P. B.: The behavior and Fate of skin autografts and skin homografts in rabbits.
J. Anat. 78, 176 (1944)

33. MEDAWAR, P. B.: The immunologically competent cell.
Ciba Foundation Study Group 16, 1
J. & A. Churchill Ltd., London 1963

34. MILLER, J. F. A. P., DUKOR, P.: Die Biologie des Thymus.
Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt 1964

35. MOORE, F. D.: Give and Take. The Development of Tissue Transplantation.
Saunders Compl., Philadelphia and London 1964

36. PEER, L. A.: Transplantation of Tissues.
The Williams & Wilkins Co., Baltimore 1959

37. PETERS, K. und BAUER, R.: Serumeiweiß- und Blutbildveränderungen bei Ratten nach intravenösen Injektionen von P^{32}, Sr^{89} und Au^{198}.
Strahlenther. 127, 253 (1965)

38. PICHLMAIER, H., TREPEL, F.W.: Die Beeinflussung der Homotransplantatreaktion durch extrakorporale Bestrahlung des Blutes an Ratte und Hund.
Langenbeck's Archiv Klin. Chir. 316, 537 (1966)

39. PIERCE. J.C., VARCO, R.L., GOOD, R.A.: Prolonged survival of a renal homograft in a dog treated with 6-mercaptopurine.
Surgery 50, 186 (1961)

40. SCHÖNE, G.: Die heteroplastische und homöoplastische Transplantation: Eigene Untersuchungen und vergleichende Studien.
Julius Springer, Berlin 1912

41. SCHWARTZ, R.: Immunosuppressive drugs.
Progr. Allergy 9, 246 (1965)

42. SCHWARTZ, R., DAMASHEK, W.: The effects of 6-mercaptopurine on homograft reactions.
J. clin. Invest. 39, 952 (1960)

43. SCHWARTZ, R., STACK, J., DAMASHEK, W.: Effect of 6-mercaptopurine on antibody production.
Proc. Soc. exp. Biol. 99, 164 (1958)

44. SIPE, C.R., CHANADA, A.D., CRONKITE, E.P., JOEL, D., and SCHNAPPAUF, Hp.: The influence of varying dose and repetitive short session of ECI of the blood on the production of lymphopenie.
Rad. Res. 25, 684 (1965)

45. STARZL, Th.E.: Experience in renal transplantation.
Saunders Comp., Philadelphia and London 1964

46. THOMAS, E.D., COLLINS, J.A., KASAKURA, S., and FERREBEE, J.W.: Lethally irradiated dogs given infusions of fetal and adult hematopoietic tissue.
Transplantation 1, 514 (1963)

47. TROWELL, O.A.: The sensivity of lymphocytes to ionising radiation.
J. Path. Bact. 64, 687 (1952)

48. ULLMANN, E.: Experimentelle Nierentransplantation.
Wien. klin. Wschr. 15, 281 (1902)

49. UPHOFF, D.E.: Alteriation of homograft reaction by A-methopterin in lethally irradiated mice treated with homologous marrow.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 99, 651 (1958)

50. WHEELER, J.R., WHITE, W.F., CALNE, R.Y.: Selective lymphopenia by use of intralymphatic ^{198}Au and Splenectomy. Brit. Med. J. 2, 339, (1965)

51. WOLF, J.S., HUME, M.D.: Transplant immunity in animals with lymphocytopenia induced by indwelling beta irradiation. Surg. For. XVI, 202 (1965)

52. WOLF, J.S., McGAVIC, J.D., HUME, D.M.: Inhibition of the effector mechanism in transplant immunity by local graft irradiation. Surg. For. XVIII, 249 (1967)

53. WOLSTENHOLME, G.E.W., and O'CONNOR, M.: Antilymphocytic Serum. I. & A. Churchill, London 1967

54. WOODRUFF, M.F.A.: The transplantation of tissue and organs. Springfield, Ill., Charles C. Thomas, 1960

55. WOODRUFF, M.F.A., ANDERSON, N.F.: The effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocyte serum on the survival on skin homografts in rats. Ann. N.Y. Acad. Sci. 120, 119 (1964)

56. ZACHARSKI, I.R., HILL, R.W., MALDANO, J.E.: The lymphocyte. Mayo Clin. Proc. 42, 7, 431 (1967)

57. ZILVERSMIT, D.B., BOYD, G.A., BRUCE, M.: The effect of particle size on blood clearance and tissue distribution of radioactive gold colloids. J. Lab. Clin. Med. 40, 255 (1952)

58. ZUKOSKY, C.F., CALLWAY, J.M., RHEA, W.G.: Prolonged acceptance of a canine renal allograft achieved with prednisolone. Transplantation 3, 380 (1965)

Zu besonderem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. med. Emil-Sebastian BÜCHERL verpflichtet, der mir in so großzügiger Weise wissenschaftliche Anleitung zu dieser Arbeit gewährte.

Herrn Prof. Dr. med. Kurt KÖHN danke ich für die hilfreiche Unterstützung bei der Herstellung und Auswertung der pathologisch-histologischen Präparate.

Lebenslauf

Am 3. 10. 1943 wurde ich als Tochter des Diplomingenieurs Erich Warnecke und seiner Frau, der Ärztin Dr. med. Marianne Warnecke, in Stettin geboren. Seit 1946 lebe ich in Berlin und habe 1962 meine Schulausbildung mit dem Abitur abgeschlossen.

Im Wintersemester 1962/63 begann ich an der Freien Universität Berlin, Humanmedizin zu studieren. 1965 legte ich hier die Ärztliche Vorprüfung und im April 1969 die Ärztliche Prüfung mit dem Urteil "gut" ab.

Druck: PHOTO COPIE W. Hilke KG., 1 Berlin 30, Motzstraße 64